

N° 2363
Série A,
N° Série 1497

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Jean AUGIER

1^{re} THÈSE. — CONSTITUTION ET BIOLOGIE DES RHODOPHYCÉES
D'EAU DOUCE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le *13 octobre* 1934, devant la Commission d'examen

MM. M. MOLLIARD... *Président.*

GUILLIERMOND... }
JAVILLIER..... } *Assesseurs.*

GAP
IMPRIMERIE LOUIS JEAN

1934



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551414_0030

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen honoraire.... M. MOLLIARD.
Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.

<i>Professeurs honoraires</i>	{	H. LE CHATELIER.	GOURSAT.
		H. LEBESGUE.	WALLERANT.
		A. FERNBACH.	GUILLET.
		A. LEDUC.	PECHARD.
		Emile PICARD.	FREUNDLER.
		Rémy PÉRIER.	P. A. DANGEARD.
		Léon BRILLOUIN.	

PROFESSEURS

P. JANETT	Electrotechnique générale.	G. BRUHAT.....	Physique.
Gabriel BERTRAND	Chimie biologique.	E. DARMOIS.....	Physique.
M ^{me} P. CURIE ...T	Physique générale	A. DEBIERNE.....	Radioactivité.
M. CAULLERY ...T	Zoologie (Evolution des êtres organisés).	A. DUFOUR.....T	Physique (P. C. N.).
G. URBAINT	Chimie générale.	L. DUNOYER.....	Optique appliquée.
Emile BOREL ...T	Calcul des probabilités et Physique mathém.	A. GUILLERMOND.T	Botanique (P. C. N.).
L. MARCHIS ...T	Aviation.	M. JAVILLIER....	Chimie biologique.
Jean PERRIN ...T	Chimie physique.	L. JOLEAUD.....	Paléontologie.
H. ABRAHAM ...T	Physique	ROBERT LÉVY....	Zoologie.
E. CARTANT	Géométrie supérieure.	H. MOUTON.....	Chimie physique.
M. MOLLIARD ...T	Physiologie végétale.	F. PICARD.....	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
L. LAPICQUE ...T	Physiologie générale.	Henri VILLAT ...T	Mécanique des fluides et applications.
E. VESSIOTT	Théorie des fonctions et théorie des transformations.	Ch. JACOBT	Géologie.
A. COTTONT	Physique générale.	P. PASCALT	Chimie minérale.
J. DRACHT	Analyse supérieure	M. FRÉCHET.....T	Calcul des Probabilités et Physiques mathématiques
Charles FABRY ..T	Physique.	E. ESCLANGON...T	Astronomie.
Charles PÉREZ ..T	Zoologie.	M ^{me} RAMART-LUCAS	Chimie organique.
Léon BERTRAND .T	Géologie structurale et géologie appliquée.	H. BÉGHIN.....T	Mécanique physique et expérimentale.
E. BLAISET	Chimie organique.	Foch	Mécanique expérimentale des fluides.
R. LESPIEAU ...T	Théories chimiques.	PAUTHENIER ...T	Physique (P. C. N.).
P. PORTIER ...T	Physiologie comparée.	De BROGLIE.....T	Théories physiques.
E. RABAUD ...T	Biologie expérimentale.	CHRÉTIEN	Optique appliquée.
V. AUGER.....T	Chimie appliquée.	F. JOB.....	Chimie générale.
M. GUICHARD....	Chimie minérale.	LABROUSTE	Physique du globe.
Paul MONTEL ...T	Mécanique rationnelle.	PRENANT	Zoologie.
P. WINTREBERT ..T	Botanique.	VILLEY	Mécanique physique et expérimentale.
L. BLARINGHEM .T	Anatomie et histologie comparées.	BOHN	Zoologie (P. C. N.).
O. DUBOSCQT	Biologie maritime.	COMBES	Scs Nlles (P. C. N.).
G. JULIAT	Mécanique analytique.	GARNIER	Mécanique rationnelle.
C. MAUGINT	Minéralogie.	PÉRES	Mécanique des fluides.
A. MICHEL-LÉVY.	Pétrographie.	HACKSPILL	Chimie (P. C. N.).
H. BÉNARD.....T	Mécanique expérimentale des fluides.	LAUGIER	Physiologie générale.
A. DENJOYT	Calcul différentiel et calcul intégral.	TOUSSAINT	Technique aéronautique.
L. LUTAUDT	Géographie physique et géologie dynamique.	G. RIBAUD.....T	Haute température.
Eugène BLOCH ..T	Physique théorique et physique céleste.	LANQUINE	Géologie.
		CHAZY	Mathématiques.
		GAULT	Chimie (P. C. N.)
		CROZE	Physique.
		DUPONT	Chimie (P. C. N.)

Secrétaire A. PACAUD
Secrétaire honoraire D. TOMBECK.

N° 2363

Série A,
N° Série 1497

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Jean AUGIER

1^{re} THÈSE. — CONSTITUTION ET BIOLOGIE DES RHODOPHYCÉES
D'EAU DOUCE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

1934, devant la Commission d'examen

MM. M. MOLLIARD... .. *Président.*

GUILLIERMOND .. }
JAVILLIER..... } *Assesseurs.*

GAP

IMPRIMERIE LOUIS JEAN

1934



CONSTITUTION ET BIOLOGIE DES RHODOPHYCÉES D'EAU DOUCE

INTRODUCTION - HISTORIQUE

Une dizaine de genres d'Algues rouges, Bangiales et Floridées, habitent les eaux douces de la France. Les principaux sont :

BANGIALES : *Bangia*
 Porphyridium

NEMALIONALES : *Audouinella*
 Balbiania

Batrachospermum
 Lemanea
 Sacheria

Thorea

CRYPTONEMIALES : *Hildenbrandtia*

Le public les connaît assez peu, pour des raisons qui tiennent à leur biologie, ainsi qu'à leur aspect. Résumons, en quelques lignes, ces particularités.

Au lieu que les végétaux verts sont vulgairement répandus dans les eaux douces, les Algues rouges sont étroitement éclectiques quant à leurs conditions de vie. Il faut les rechercher sur des fonds rocheux,

aux places où le courant est violent, la profondeur de l'eau minime, ainsi dans les rapides et les cascades (1). En ces stations privilégiées, elles sont souvent très abondantes, à l'exclusion d'autre végétation. Mais leur présence peut être très inconstante, en raison surtout des variations rapides qui affectent le milieu des eaux douces. Ainsi les *Batrachospermes* disparaissent quand survient un apport de vase ou de feuilles mortes. Certaines années, les *Thorea* sont introuvables aux places où elles abondaient; plus tard, elles s'y montrent à nouveau.

Les Algues de ce groupe ne diffèrent pas toujours des plantes vertes au point de forcer l'attention. Si le nom d'algues « rouges » exprime en effet la couleur de plusieurs d'entre elles (*Bangia*, *Porphyridium*, *Balbiania*, *Hildenbrandtia*), il semble, pour le profane, qualifier bien mal les *Batrachospermum*, *Lemanea*, *Thorea*. Ces dernières, les plus grandes et les plus connues, ont des teintes variables: vert, olivâtre, brun noir, jamais le rouge franc de beaucoup d'algues marines.

Toutes possèdent pourtant de la phycoérythrine (2), et méritent ainsi leur nom. Mais la phycocyanine s'y superpose, en proportion variable selon les genres et les conditions de vie. On s'explique que le rouge et le bleu, alliés au vert de la chlorophylle, produisent les nuances les plus diverses.

Mieux que le pigment rouge, les caractères de la sexualité, connus dans la plupart des cas (3), font de ces Algues d'authentiques Rhodophycées.

*
**

La physiologie de ces plantes n'est pas aussi bien connue, il s'en faut, que leur structure ou leur développement. L'on possède assez peu de données sur la nature des composés chimiques qu'elles élaborent; les corps dissous dans le suc cellulaire n'ont pas été étudiés: ils ont échappé à l'examen histochimique, seul procédé de recherche

(1) Les *Porphyridium* sont souvent terrestres ou subterrestres.

(2) Dans le *Batrachospermum vagum*, la phycocyanine paraît exister seule à côté de la chlorophylle (KYLIN).

(3) Dans le genre *Audouinella*, on ne connaît la reproduction sexuée que pour une seule espèce. La sexualité est très mal connue chez les *Thorea*; les métamorphoses ne permettent guère cependant d'éloigner ce genre des *Lemanea*.

couramment employé (1). Un meilleur succès semble réservé à la technique macrochimique, mise au point récemment dans l'étude des Algues marines (RICARD [1], GUÉGUEN [2]) (2).

Toutefois, pour de nombreuses espèces, de sérieux obstacles se présentent : la recherche chimique requiert en effet un poids notable d'algues propres. Or les *Porphyridium* sont unicellulaires ; les *Audouinella*, filamenteux, mesurent quelques millimètres ; les *Balbiania* sont de petits épiphytes des Batrachospermes ; les *Hildenbrandtia* revêtent les pierres d'une mince croûte rouge : il est très difficile d'en entreprendre l'analyse.

Quelques espèces néanmoins, grâce à leur taille relativement grande, constituent un matériel favorable. C'est à leur étude que le présent travail est consacré, du point de vue spécial de la chimie des glucides. L'on a examiné les espèces suivantes :

Lemanea nodosa, Kütz.

Sacheria fucina, Sirdt.

Thorea ramosissima, Bory.

Bangia atropurpurea, Lb.

Batrachospermum moniliforme, Roth.

Les deux premières ont fait l'objet d'une analyse approfondie, exposée séparément ; cette analyse jette quelque clarté sur les données plus sommaires relatives aux trois autres espèces. Ces recherches nous furent inspirées par les récentes découvertes relatives aux Rhodophycées marines. A partir de *Rhodymenia palmata*, H. COLIN et E. GUÉGUEN [6, 7] ont isolé un hétéroside nouveau, le « floridoside », formé de l'union d'une molécule de galactose α et d'une molécule de glycérol. Le même glucide fut retrouvé par ces auteurs [8] dans *Furcellaria fastigiata*, et sa présence leur paraît certaine dans toutes les Floridées qu'ils ont étudiées jusqu'ici, au nombre d'une vingtaine.

Le floridoside se trouve-t-il dans les Algues rouges d'eau douce ? Y est-il seul présent, ou accompagné d'autres sucres ? Les conditions

(1) TIHOMIROV a tenté d'employer la phénylhydrazine comme réactif histo-chimique des sucres (Ann. du jardin bot. de Buitenzorg, Suppl. 3; 2. Leide 1910). Appliquée aux Algues rouges, la méthode n'a pas donné de résultats, ni à KYLIN [3] ni à MANGENOT [4].

(2) Tout récemment (1932), HAAS et HILL [5] ont recherché les polyols, par voie chimique, dans le *Batrachospermum moniliforme*. Le résultat de cette recherche fut négatif.

de vie très spéciales de ces plantes méritaient que la question fût soulevée : ainsi se trouve posé dans un nouveau domaine le problème, souvent débattu en botanique, des relations entre le chimisme et les affinités systématiques.



Contrairement aux sucres dissous, les glucides figurés, ainsi que la membrane cellulaire étaient à la portée de l'histologie.

On sait que les membranes des Lémnécées, des Batrachospermes (SIRODOT [9]), des *Thorea* (MÖBIUS [10], SCHMITZ [11]) sont formées, pour une part au moins, de cellulose, qui bleuit sous l'action du chlorure de zinc iodé. Chez les Bangiales au contraire, cette réaction ne peut être obtenue (1).

Quant aux enclaves cytoplasmiques, l'histoire des observations peut être résumée ainsi :

Examinant les Algues suivantes : *Lemanea*, *Batrachospermum*, *Thorea*, *Chantransia*, *Porphyridium cruentum*, NÄGELI [2] avait en vain cherché l'amidon typique en grains.

VON SOLMS LAUBACH, en 1867 [13], observait que les spores de *Batrachospermum moniliforme* prennent dans l'eau iodée une teinte brun foncé, les autres cellules se colorant aussi, mais d'une nuance beaucoup plus pâle.

ERRERA, en 1882 [14] décrivit, dans les cellules de *Lemanea*, des amas granulaires devenant brun violacé au contact de l'iode. Il s'agit, écrit-il, d'un « hydrate de carbone qui semble se rapprocher à la fois du glycogène et de l'amidon. » Ce même corps doit exister, selon cet auteur, chez les Batrachospermes.

Les résultats dus à ERRERA ont été récemment vérifiés et précisés par MANGENOT [15]. Au cours d'une minutieuse étude cytologique des Lémnécées, l'auteur décrit des granules colorables en brun par l'iode, répandus dans le protoplasme et les vacuoles, sans relation avec les plastes. Ils sont colorés en rouge par la crésosulfonine, comme le glycogène.

Dans les cellules végétatives et les spores de *Thorea ramosissima*, MÖBIUS [16], en 1891, décrivit des grains d'amidon accumulés surtout autour du noyau. SCHMITZ [17] fit remarquer peu après les caractères bien spéciaux de cet amidon : il s'agit non pas de grains individua-

(1) Cf. en particulier P. DANGEARD, Traité d'Algologie, Paris 1933, p. 362.

lisés, mais d'une gelée en masses irrégulières, imprécises, prenant sous l'action de l'iode une teinte qui va du brun rouge au violet.

Les cytologues ont reconnu à tous ces caractères l'amidon particulier à beaucoup de Rhodophycées marines. Sa présence constitue même pour plusieurs naturalistes un caractère systématique important. Ainsi, en 1932, GEITLER [18], rattachant aux Bangiales certaines formes d'organisation très simple (*Porphyridium*), invoque comme critère la présence de cette matière amylacée spéciale, séparée des chromatophores.

**

Or, ce que l'on désigne sous le nom d'« amidon floridéen » offre, dans l'ensemble des Rhodophycées, des caractères variables, en ce qui concerne la morphologie aussi bien que la coloration en présence d'iode. Dans plusieurs espèces marines, il s'agit d'une substance en gros grains, présentant la croix noire entre nicols à l'extinction, certainement très voisine de l'amidon typique des plantes vertes. Ailleurs, ce sont des granules plus ou moins agglomérés en plages, comme chez les *Bangia*.

Dans ces derniers cas, on peut se demander si le nom d'amidon convient encore à des produits caractérisés seulement par leur coloration assez variable en présence d'iode. Les cellules végétales ne sont pas rares, qui brunissent sous l'action de ce réactif : il n'est plus permis aujourd'hui d'y voir chaque fois une sorte d'amidon ou du glycogène.

Des exemples multiples ont fait reconnaître que les lois de l'adsorption, bien plus que l'affinité chimique, expliquent les colorations obtenues avec l'iode. On les trouvera cités en particulier par CZURDA [19], dans une mise au point récente de ce sujet. Les membranes imprégnées de galacto-arabanes, dans certaines graines; les tubes criblés de nombreuses Ptéridophytes, les saponosides des Caryophyllées, certains alcaloïdes, et bien d'autres corps se colorent en bleu. Mais ce qui doit retenir surtout notre attention, c'est la teinte brune ou violette communiquée par l'iode à la gélose de nombreuses Rhodophycées (SAUVAGEAU [20]). La confusion avec le glycogène serait facile en bien des cas.

Les histologistes qui se sont occupés de l'amidon floridéen ont senti le besoin d'un contrôle chimique à leurs observations (MANGENOT [21]). Si l'on en juge d'après les derniers résultats, cette confron-

CHAPITRE PREMIER

LES CARACTÈRES GÉNÉRAUX DES LÉMANÉACÉES

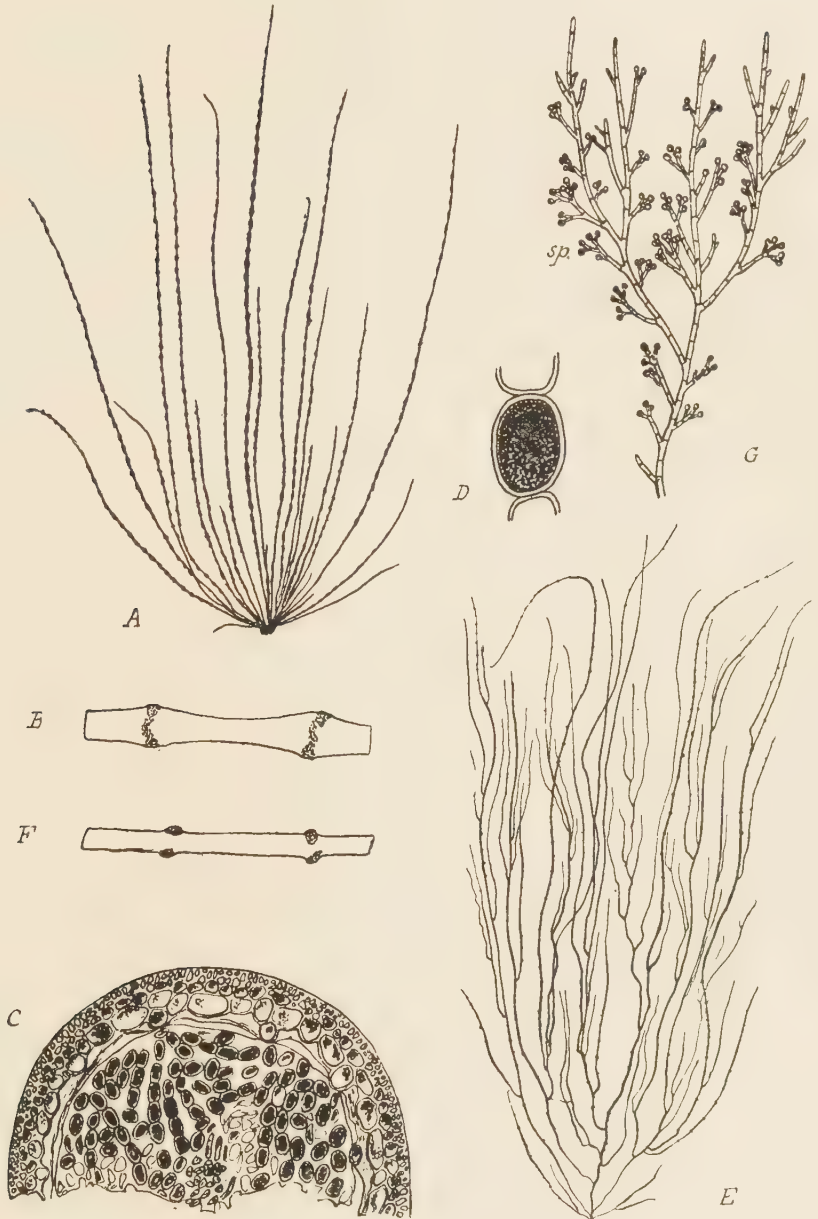
I. — DONNÉES MORPHOLOGIQUES

Les Lémanéacées ont fait l'objet de travaux descriptifs assez nombreux, celui de SIRODOT [25] que nous avons consulté principalement, ceux de KEITEL, d'ATKINSON, plus récemment de KYLIN [26]. Elles sont trop connues pour qu'il soit utile d'en reprendre la description, d'autant que l'on trouvera, résumé par G. HAMEL dans la Revue Algologique ([27] II, p. 52, 1925) l'état de nos connaissances sur la morphologie, l'anatomie, le développement de ces Floridées.

Ce sont des Algues de pays siliceux, à sol granitique ou cristallophyllien. Aux environs de Saint-Lô, le cours de la Vire et des ruisseaux affluents présente une série de petits rapides. Les galets de phyllades y sont souvent tapissés d'un épais manteau de *Lemanea nodosa*, Kütz, vert olive ou brun rougeâtre. Ce sont des touffes de filaments non ramifiés, longs de 8 à 15 centimètres, épais d'un millimètre environ, s'effilant aux extrémités; ils présentent un aspect moniliforme typique, celui d'une enfilade de bobines serrées bout à bout. De 1930 à 1933, sous la conduite de M. l'abbé FRÉMY, professeur à l'Institut Libre de Saint-Lô, nous avons pu récolter une dizaine de kilos de cette algue, dès avril, quand les eaux sont assez basses, et jusqu'au mois d'août.

La pureté des récoltes était remarquable. Un triage sous l'eau, dans une cuvette à fond blanc, permettait d'enlever quelques larves d'insectes, quelques *Edogonium* et des mousses. Il est bon cependant de séparer ou de nettoyer avec soin le disque, ou coussinet qui fixe les touffes.

Un épiphyte fréquent mérite ici mention : c'est la Floridée *Audouinella violacea* (Kütz) HAMEL. Elle forme sur les *Lemanea* de



Lemanea nodosa, Kütz. A. Algue entière (un peu réduit). B. Fragment d'un filament montrant les anneaux de tissu anthéridifère (Gr. 4). C. Coupe transversale (Gr. 50 D). D. Une spore (Gr. 300 D).

Sacheria fucina, Sirdt. E. Algue entière (réduit de moitié). F. Fragment d'un filament montrant les papilles anthéridifères (Gr. 4).

Audouinella violacea, (Kütz), Hamel. G. Algue entière (Gr. 35). — sp. bouquet de spores.

petites houppes de poils de 2 à 3 millimètres, clairsemées, ou plus souvent nombreuses et fondues en un revêtement pileux continu et dense. Souvent elle couvre en surface des touffes entières, et produit des taches rouge clair, plus ou moins violacé, sur le tapis olivâtre des *Lemanea*.

On a figuré (Pl. I, G) un rameau d'*Audouinella* montrant les spores arrondies, très abondantes au mois d'août, déjà nombreuses, sur certains échantillons, en avril. L'iode les colore en brun rougeâtre, mais la teinte est beaucoup plus pâle que celle des spores de *Lemanea*. Peut-être pourrons-nous tenter une analyse chimique de cet épiphyte, à la faveur de récoltes suffisamment abondantes.

A la fin de juillet, dans les stations ensoleillées de la Vire, les filaments de *Lemanea* s'altèrent, se fragmentent et sont emportés par le courant. A cette date, on peut encore se procurer des thalles en bon état dans les cascades ombragées des ruisseaux. Peut-être en raison de la moindre profondeur, les filaments y sont moins longs et plus fins que dans la Vire.

La même rivière nous a fourni des quantités importantes de *Sacheria fucina* Sirdt (1), de préférence en eau plus profonde. On en reconnaît à première vue les touffes très élégantes, d'un vert-bleu ou d'un vert franc. Les filaments, dépassant parfois 20 cm., assez ramifiés, surtout à la base, sont cylindriques; lorsque la saison s'avance, ils présentent des renflements annulaires bien nets, presque équidistants, parsemés d'éminences papilleuses noires.

Ces deux espèces sont organisées sur le même plan fondamental. Chaque filament est creux. La lumière du tube qu'il constitue contient au début un liquide aqueux; dès avril elle est envahie par des gonimoblastes, issus de carpogones intrapariétaux. Dans leur croissance vers l'axe, les bouquets de filaments sporifères se rejoignent, se déforment par leur pression mutuelle; la cavité est enfin complètement oblitérée. Les carpospores sont alors noyées dans une masse gommeuse, produit de la gélification de leurs membranes; elles se disperseront par désagrégation du thalle.

Dans la coupe transversale d'un filament de *Lemanea nodosa* récolté en juillet, on distingue ainsi : (Pl. I, C)

(1) *Lemanea fucina* Bory, et quelques autres, ont été réunies par Sirodot dans un genre nouveau : *Sacheria*; le reste des espèces du genre *Lemanea* Bory, conservant les anciennes dénominations. Kütz et Atkinson désignent ces dernières sous le nom de *Eulemanea*.

1°) la paroi, formée de plusieurs couches de cellules, les externes seules riches en pigment rouge; les internes plus grandes, revêtues d'un enduit mucilagineux épais, jaunâtre, fixant la safranine et le rouge de ruthénium.

2°) à l'intérieur, le bloc de gomme semi-solide où sont plongées les spores; le rasoir en entraîne plusieurs, et leur place reste marquée comme à l'emporte-pièce. Sur les bords, cette gomme est séparée de l'enduit cortical, d'origine différente; elle fixe également le rouge de ruthénium, mais la safranine la colore (au moins par places) en orange.

Après action de l'acide sulfurique concentré, pendant quelques secondes, l'eau iodée teinte en bleu intense les membranes cellulaires, même celles des spores; les gommages restent incolores.

Les spores humides, en masse, sont d'un vert cendré. Au microscope, leur contenu apparaît comme une masse confusément granuleuse, verdâtre. Dans l'eau iodée, il se colore en brun cuivré, ou en brun violacé; on voit alors plus nettement un ou plusieurs corpuscules arrondis restés incolores.

Les cellules corticales, en juillet, contiennent aussi plus ou moins de matière granuleuse brunissant par l'iode, ainsi que l'ont décrit les auteurs.

Les filaments que nous étudions représentent une phase seulement dans le cycle de développement des Lémnéacées. Ils sont précédés, en hiver, par un gazon minuscule, le « chantransia », de 1 à 5 millimètres, monosiphoné. Sur lui prennent naissance, à partir de janvier, les appareils fructifères. Ils se développent à la manière de parasites, et le chantransia disparaît plus ou moins tôt. Ce dernier, pas plus que le tissu vivace adhérent à la pierre (protonéma), n'a pu être étudié ici, en raison de sa petitesse et des difficultés de la récolte, pendant les hautes eaux de l'hiver.

II. — DONNÉES CHIMIQUES

Bien qu'orientés surtout vers la recherche des glucides, nous avons saisi l'occasion d'étudier, dans ses grands traits, la composition minérale des Lémnéacées et leur teneur en azote.

1) Teneur en eau

Le 18 avril, sitôt la récolte, un lot de *Sacheria fucina* fut égoutté avec soin, asséché quelques instants dans un linge; les algues, pesant 150 grammes, furent étendues dans une pièce aérée. Après trois jours, le poids était de 13 gr. A l'étuve à 100°, il se stabilisait à 11 gr. 2. La teneur en eau était donc primitivement de 92 à 93 %.

Replacées à la température ordinaire, les algues, après trois jours, ont repris par hygroscopicité un poids d'eau voisin de 16 % du sec.

A la même date, d'après une expérience identique, *Lemanea nodosa* contient seulement 88 % d'eau.

L'écart entre les deux espèces est dû, en partie au moins, au développement moins avancé de la première : les *Sacheria* étaient encore à peu près vides de spores, alors que les *Lemanea* présentaient déjà une certaine quantité de gonimoblastes. La consistance de ces dernières semblait d'ailleurs, à première vue, moins aqueuse.

L'expérience, répétée pour *Lemanea nodosa* le 4 août, indique 22 % de poids sec, soit 78 % d'eau seulement. La sporulation était à son terme.

2) Etude sommaire des cendres

a) Quantité de cendres. — On récolte (en avril) un lot de *Lemanea nodosa* très propres. Après avoir rejeté la base des touffes, capable de retenir de la terre, on dessèche les algues à l'étuve à 105°. Un broyage rapide, à chaud, permet alors de les réduire en fragments d'un millimètre. On replace à l'étuve, et l'on prélève un poids déterminé de substance sèche. (8 gr. 682).

Un essai permet de reconnaître l'abondance des chlorures, facilement volatils, ce qui oblige à incinérer avec précautions. Les fragments d'algues sont d'abord grillés doucement sur un tesson de porcelaine chauffé par un bec Bunsen. Lorsque la plus grande partie du charbon a brûlé, la substance est d'un rouge ocracé, ce qui manifeste sa richesse en oxyde de fer. On lave alors les cendres à l'eau bouillante, jusqu'à ce que la liqueur obtenue ne donne plus aucun louche par addition de nitrate d'argent.

La partie insoluble est ensuite desséchée, et l'incinération achevée au rouge franc du four à moufle. On lave une seconde fois à l'eau chaude, qui dissout d'ailleurs très peu de matière.

Les eaux de lavage sont évaporées, et le résidu sec calciné doucement, en creuset couvert, jusqu'à poids constant. Les cendres insolubles sont desséchées de leur côté.

Les résultats sont les suivants :

Cendres solubles	0.633	soit 61.7 % des cendres
Cendres insolubles	0.393	
TOTAL	1.026	soit 11.8 % du poids d'algues sèches; 1.4 % du frais.

Il apparaît que les *Lemanea* sont moins riches en sels que les algues marines étudiées jusqu'ici. Ainsi dans les Phéophycées, P. RICARD [28] a observé des teneurs de 20 à 40 % du poids sec, 4 à 5 % du frais; le minimum était 8.5 % du sec chez les *Laminaria saccharina*, en été.

b) Alcalinité des cendres. — Pour 1 gr. 026 de cendres, l'alcalinité soluble dans l'eau correspond à 13 cm³, 1 de SO⁴H² décínormal (virage à l'hélianthine); les bases solubles dans l'acide étendu et froid correspondent à 41 cm³ 8.

c) Composition des cendres solubles. — Dans les cendres solubles, soit 0 gr. 633, on a dosé les chlorures et le potassium.

Les chlorures, par le nitrate d'argent. On trouve 0 gr. 3179, exprimé en KCl, soit la moitié des cendres solubles, 31 % des cendres totales, 3.6 % du poids d'algues sèches. La proportion de Cl dans les cendres totales est donc sensiblement de 14,7 %. (Comparez *Laminaria digitata* 17.2 %, *Fucus vesiculosus* 15.2 %, cité d'après M. MOLLIARD [29], I).

Le potassium, à l'état de perchlorate (voir la technique dans GRANDSIRE [30]). On trouve: K²O: 35 % des cendres totales, 4.1 % du poids d'algues sèches (comparez *Laminaria flexicaulis*, stipe 33.7 % de K²O dans les cendres, — lame 19.9 %; *Ascophyllum nodosum* : 12.8 %, cité d'après SAUVAGEAU [31]).

Dans les cendres solubles de *Lemanea*, nous n'avons trouvé que des traces de nitrates et pas de phosphates; elles contiennent des chlorures, sulfates et carbonates de potassium et de magnésium.

3) Teneur en azote total

Par la méthode de KJELDAHL on a obtenu les résultats suivants relatifs à *Lemanea nodosa* :

18 avril	poids d'algues séchées à 105°	0 gr. 401	azote %	5,2
4 août	—	0 gr. 398	—	5,4

Ces chiffres sont bien supérieurs à ceux qu'on donne pour certaines algues marines (Laminaires, Fucus : 1% environ).

CHAPITRE II

L'EXTRAIT ALCOOLIQUE DES LÉMANÉACÉES

I. — PRÉPARATION DE L'EXTRAIT; SES PROPRIÉTÉS PRINCIPALES

La fixation, première étape de l'analyse, a été pratiquée aussitôt que possible après la récolte et le nettoyage des algues. On les égoutte, on les pèse et on les jette dans de l'alcool à 90° bouillant, en quantité suffisante pour les baigner entièrement. L'ébullition maintenue 10 à 15 minutes anéantit les ferments et fixe les plantes dans l'état chimique où elles se trouvent lors de la récolte. Nos prédécesseurs dans l'étude chimique des algues (1) ont longuement insisté sur la nécessité de cette fixation, sans laquelle on s'expose à n'étudier ultérieurement que les diverses phases d'une autolyse.

Les algues étaient fixées de 4 à 7 heures après la récolte, plus rarement après un ou deux jours de voyage, et, dans ce cas, la composition de l'extrait alcoolique parut inchangée.

L'alcool diffuse aisément dans les minces cordons de *Lemanea* : il est donc inutile de les hacher; laissant les algues entières, on évitera la dispersion des spores, ainsi que la dissolution d'une substance cireuse, obstacle aux défécations.

En même temps qu'il assure la fixité chimique du matériel, ce traitement par l'alcool opère un premier tri des principes immédiats contenus dans les algues. Un petit nombre d'entre eux passent en solution, en particulier les sucres à petite molécule, dont la recherche doit nous occuper en premier lieu.

**

Un lot de *Lemanea nodosa* pesant 1.300 grammes fut fixé aussitôt la récolte, le 3 août 1932. On obtint par décantation 3 litres 400 d'ex-

(1) Voir notamment E. GUÉGUEN [32] p. 17, 22 et suivantes.

trait alcoolique d'un vert intense (1). La distillation sous pression réduite permet d'évaporer l'alcool à la température ordinaire, donc sans risque d'altération pour les principes dissous. Vers la fin de cette opération, les pigments s'insolubilisent (2).

La liqueur aqueuse, résidu de la distillation, fut amenée au volume de 325 cm³. Elle est d'aspect laiteux, d'une teinte vert jaunâtre, très peu visqueuse; son odeur forte rappelle celle de l'huile de foie de morue : c'est l'odeur des extraits analogues d'algues marines. La réaction est neutre ou très légèrement acide. La saveur est très amère, en raison de l'abondance du chlorure de potassium : les *Lemanea* en contiennent beaucoup, nous l'avons vu, et l'alcool de fixation le dissout facilement.

La simple filtration ne permet pas d'éclaircir suffisamment l'extrait pour qu'il soit observable au polarimètre. On y parvient en déféquant, par exemple au moyen de l'acétate basique de plomb. Ce réactif produit un floculat très abondant, que l'on filtre; le plomb en excès est éliminé, et l'on obtient une liqueur limpide, jaunâtre.

1°) *Cette liqueur est dextrogyre.* — Rapportons, selon l'usage, la déviation polarimétrique à une liqueur L₁ dont le volume en cm³ est exprimé par le même nombre que le poids en gr. des algues traitées. Cette déviation est :

$$\alpha_1 = + 3^\circ$$

en lumière jaune du sodium, sous une épaisseur de 2 décimètres (3).

2°) *Cette liqueur n'est pas réductrice.* En recherchant les sucres réducteurs contenus dans 12 cm³ de la liqueur L₁, on n'en trouve que des traces, non dosables par la méthode de G. BERTRAND [33]. (Méthode par réduction de la liqueur cuprotartrique).

Si l'on ajoute avant la défécation, une quantité minime de glucose, le pouvoir réducteur devient très appréciable. On a pu ainsi se convaincre que les *Lemanea* renferment moins de 0,04 de sucre réducteur libre pour 100 d'algues fraîches.

(1) La chlorophylle est altérée par l'ébullition. On peut en observer le spectre caractéristique dans les extraits alcooliques préparés à froid, comme l'ont signalé les auteurs.

(2) Triturés avec du chlorure d'antimoine, les pigments précipités prennent une teinte bleue (réaction des carotinoïdes).

(3) Dans la suite, les dérivations polarimétriques seront observées au tube à 2 décimètres, sauf indication contraire.

Il importe de noter que l'alcool de fixation ne dissout pas la totalité des substances dextrogyres contenues dans les algues. Quatre extractions par l'alcool à 70° bouillant ont été nécessaires pour les épuiser. On a traité ces extraits successifs comme le premier. Les déviations observées étaient :

$$\alpha_2 = + 47'$$

$$\alpha_3 = + 7'$$

$$\alpha_4 = 0$$

La liqueur L₄ est optiquement inactive, même réduite au vingtième de son volume, soit 65 cm³.

*
**

En répétant ces opérations à partir de 900 gr. de *Sacheria fucina*, récoltés le 19 juillet, on a obtenu des résultats analogues. Cependant l'extrait, non réducteur, est beaucoup moins dextrogyre.

$$\alpha_1 = + 54'$$

A quel corps attribuer ces déviations positives ? Pour résoudre la question, il faut déféquer convenablement les liqueurs. Cette opération étant ici particulièrement difficile, nous devons nous y arrêter quelque temps.

II. — PARTICULARITÉS DE LA DÉFÉCATION

Le précipité produit par l'acétate basique de plomb est une bouillie verte qui reste longtemps en suspension. Supposons que l'on cesse l'affusion du déféquant lorsque les granules du floculat se précisent et que, après un moment de repos, une mince couche claire apparaît en surface. La filtration est alors facile. Le filtrat, jaunâtre, présente avec intensité les réactions du plomb ; cependant, l'addition d'une goutte d'extrait de Saturne provoque encore un abondant précipité blanc verdâtre. Ce dernier est formé, pour une grande part, de chlorure de plomb, issu de la double décomposition entre le déféquant et les chlorures, abondants dans le milieu. Pour arriver au terme de la précipitation, il faut utiliser une grande quantité de sel de plomb ; la liqueur se convertit alors en une bouillie très épaisse. L'opération n'est pas à conseiller : même en lavant avec soin le précipité, on perd

15 % environ du corps dextrogyre, par rapport au résultat d'une défécation partielle.

L'analyse des liqueurs traitées au plomb, donc incomplètement déféquées, est presque impossible. L'hydrolyse par les acides forts provoque un rougissement rapide, ce qui interdit l'usage du polarimètre; la quantité d'acide nécessaire à cette opération est considérable, et cela s'explique. Une grande partie des chlorures ont été remplacés par des acétates, que l'acide fort s'emploie à décomposer; l'acide acétique libéré n'est nullement équivalent, quant au pouvoir hydrolysant.

*
**

L'emploi de l'acide phosphotungstique en solution sulfurique (1) donne de meilleurs résultats. Chaque goutte de ce réactif provoque la formation immédiate d'un précipité blanc mêlé de petits flocons vert-jaunâtres. Bientôt le précipité se rassemble au fond d'une liqueur parfaitement limpide, presque incolore. A ce moment, une nouvelle goutte donne encore un précipité blanc très fin. On filtre; le flocculat est essoré et lavé. On peut employer au lavage une solution où l'acide phosphotungstique est au même titre que dans le jus déféqué.

L'addition d'eau de baryte froide, jusqu'à réaction alcaline, élimine l'excès du déféquant (2). Le précipité jaunâtre est filtré; on amène à neutralité par SO^4H_2 dilué. Pour éviter les tâtonnements, il est préférable d'ajouter l'acide en faible excès, puis d'agiter au contact d'une pincée de CO^3Ba pur. Après quelques instants on filtre; la liqueur neutre, presque incolore, est prête pour l'étude.

Malgré une filtration de plus, cette méthode décèle autant de produit dextrogyre qu'une défécation ménagée au plomb. Elle est préférable, car la liqueur obtenue est presque incolore, et l'hydrolyse acide

(1) Acide phosphotungstique ordinaire, pur, (P^2O^5 , 12 TuO^3 , 42 H^2O). 10 gr.

Acide sulfurique pur 5 gr. (soit 2 cm^3 9 d'acide de densité 1,833).

Eau Q. S. pour 100 cm^3 .

Pour simplifier, nous appellerons cette solution « l'acide phosphotungstique ».

(2) L'élimination n'est pas complète au moyen de CO^3Ba ; quelquefois même il est nécessaire d'employer un grand excès de baryte et le précipité de tungstate ne se forme qu'à la longue.

Il est commode de déceler des traces de tungstène par la réaction suivante. On ajoute à 0,5 cm^3 environ de la liqueur un fragment de zinc et une goutte d'acide fort. En quelques minutes, l'action de l'hydrogène naissant donne lieu à une coloration bleue.

peut en être suivie jusqu'au bout. Le traitement (réaction très acide, puis alcaline) pouvait être dangereux pour un sucre réducteur ou facilement hydrolysable : rien de cela n'est à craindre avec un extrait de *Lemanea*.

Une grande quantité de réactif est nécessaire : plus de 0 gr. 4 de l'acide cristallisé pour 100 de plantes fraîches. C'est que le chlorure de potassium en soustrait une bonne part, à l'état de précipité pulvérulent, blanc. Une solution de KCl pur précipite ainsi abondamment par l'acide phosphotungstique. Le précipité est un sel de potassium ; une certaine quantité de HCl se trouve libérée. Filtrons et neutralisons exactement *par la baryte*. La solution neutre filtrée précipite par l'acide sulfurique, elle renferme du chlorure de baryum. C'est une des raisons pour lesquelles l'extrait d'algues, après défécation et traitements subséquents, renferme du baryum, qui a remplacé une partie du potassium dans les chlorures.

L'acide phosphotungstique précipite aussi bien les autres sels solubles de potassium, mais non pas les sels de sodium et de magnésium. Or ce dernier métal existe dans l'extrait de *Lemanea*. L'addition de baryte provoque la précipitation de $Mg(OH)^2$, et le baryum remplace le magnésium dans ses sels. C'est là une seconde cause d'enrichissement de la liqueur en baryum soluble.

Il en est une autre qui intervient lorsqu'on neutralise l'acide sulfurique par le carbonate de baryum, à la température ordinaire, en présence de beaucoup de KCl. Une certaine quantité de baryum passe dans la liqueur, à l'état non seulement de bicarbonate, mais aussi de chlorure.

L'introduction du baryum est le seul changement notable dans la composition minérale des liqueurs, au cours de cette défécation. L'inconvénient de ce métal réside dans son pouvoir d'inhibition vis-à-vis des diastases : il faudra l'éliminer avant tout essai d'hydrolyse biochimique.

**

Une troisième méthode permet de clarifier l'extrait de *Lemanea* : la floculation au moyen d'un hydrate alcalino-terreux : baryte, strontiane ou chaux, à douce température. La baryte, plus soluble, est la plus commode.

Reprenons l'extrait de *Lemanea nodosa*, décrit au § 1. On en prélève 15 cm³, qu'on porte au bain-marie vers 40°. Ajoutons de l'eau

de baryte tiède. Il se forme des flocons, la liqueur jaunit, on perçoit une odeur ammoniacale. Pour une dilution et une quantité de baryte déterminées, les flocons se séparent, en masses bien définies, d'un liquide ambré. Ce dernier, filtré, ne flocule plus par affusion nouvelle de baryte. Le volume de la liqueur est alors de 27 cm³; le poids de baryte nécessaire a été de 1 gramme (pesée à l'état de cristaux hydratés).

Le floculat est lavé avec une solution convenable de baryte qui est réunie à la liqueur précédente. L'ensemble de ces liqueurs est neutralisé par SO⁴H². On filtre et on amène à 50 cm³. La déviation polarimétrique est + 3° 42'.

Cette déviation dépasse celles qu'on obtient, dans des conditions comparables, après l'action des autres déféquants. Traitons en effet des volumes égaux, soit 15 cm³ d'extrait, par le sous-acétate de plomb et l'acide phosphotungstique, en diluant de telle sorte que le volume de la liqueur prête à filtrer soit, dans chaque cas, de 27 cm³. Chaque fois le floculat est lavé; on chasse l'excès de réactif et on amène à 50 cm³. Les déviations obtenues sont les suivantes :

Acétate basique de plomb	{ défécation à fond	+ 3°6'
	{ défécation modérée	3°36'
Acide phosphotungstique, défécation à fond....		3°32'
Baryte		3°42'

Ces différences, retrouvées plusieurs fois, dans des expériences analogues, semblent tenir surtout à la texture différente des précipités, qui entraîne une adsorption plus ou moins importante.

La floculation par les alcalino-terreux n'a pas d'autre avantage que la perte minima du produit dextrogyre; elle a le grave inconvénient de fournir des liqueurs d'un jaune ambré, qui fonce avec le temps.

Il n'est pas sans intérêt de préciser les conditions d'une bonne floculation. La concentration du milieu en alcalino-terreux intervient, mais celle des matières à floculer n'est pas moins importante. Il faut que l'extrait d'algues soit suffisamment étendu d'eau, sans quoi la baryte, même en grand excès, ne provoque qu'une floculation très mauvaise, un précipité infiltrable. En ce cas, il suffit souvent d'ajouter peu à peu de l'eau pure pour obtenir bientôt une floculation convenable.

Quel que soit d'ailleurs le déféquant, la concentration du milieu en eau est un élément très important de réussite.

Pour raison de solubilité, il faut opérer en milieu plus étendu avec la chaux qu'avec la baryte. Dans les liqueurs floclées à fond par la chaux, la strontiane ne produit rien de plus, la baryte un trouble.

En quoi consiste ici, au point de vue chimique, la flocculation ? Il y a certes destruction de matières azotées, l'odeur en témoigne ; précipitation de la magnésie, assez abondante ; mais le milieu ne contient pas de glucide dont le composé barytique soit insoluble dans l'eau ou l'alcool.

On éliminera le plus commodément la baryte en excès par un courant de CO_2 . Après destruction des bicarbonates, il reste une quantité importante de baryum précipitable par l'acide sulfurique. Nous avons parlé de son origine.

On peut déféquer de même manière les jus de *Sacheria fucina*, mais nous avons eu, en général, plus de difficultés.

III. — HYDROLYSE DES LIQUEURS

Les extraits déféqués renferment un corps dextrogyre — au moins un. Pour l'identifier, on l'a soumis aux agents d'hydrolyse suivants : l'invertine, les acides forts, l'autolysat de levure de brasserie.

A) Essai d'hydrolyse par l'invertine.

Ce ferment est inactif sur les extraits de *Lemanea* et de *Sacheria* (exempts de baryum) : ils ne contiennent donc pas de saccharose.

On mélange par exemple :

Extrait de <i>Lemanea nodosa</i>	$\alpha = + 4^{\circ}10'$	5 cm ³ .
Invertine (de levure putréfiée)		1 cm ³ .

Aucun pouvoir réducteur n'est apparu après 20 heures de séjour à 37°. Rien cependant ne paralyse la diastase : si l'on ajoute un centigramme de saccharose, l'interversion est terminée après quelques instants.

B) Hydrolyse par les acides forts

Les extraits sont additionnés d'acide chlorhydrique ou sulfurique. On a souvent utilisé HCl , à raison de 5 gr. pour 100 cm³ du mélange.

On vérifie que ce dernier n'est pas réducteur, et on note la déviation polarimétrique. Puis on le répartit dans des fioles jaugées, que l'on choisit d'orifice étroit, pour éviter l'évaporation. Celles-ci sont plongées ensemble dans un bain-marie bouillant ; on les retire successivement, par exemple après 15, 30, 45... minutes.

Après refroidissement et retour, par addition d'eau pure, au volume initial, on lit la déviation, et on détermine, par la méthode de G. BERTRAND, le poids du réducteur apparu. Tant que ce dernier augmente, on continue l'hydrolyse.

A la fin, on compare la déviation α et le poids de réducteur p pour cent. Ce rapprochement est exprimé par un nombre, qui est le *pouvoir rotatoire spécifique* de la substance contenue à ce moment dans l'hydrolysate. On le désigne par $[\alpha]$, et on le définit par l'égalité :

$$[\alpha] = \frac{100 \alpha}{p l}$$

l est la longueur, en décimètres, du tube polarimétrique.

On conçoit que la valeur de $[\alpha]$, qui est une constante des corps, puisse renseigner sur la nature des produits d'hydrolyse.

Voici les résultats de deux expériences relatives à *Lemanea nodosa* :

Temps d'hydrolyse	Déviation	Réducteur % exprimé en galactose	$[\alpha]$
I. Récolte août 1932.			
0	+ 5°53'	0	»
30 m.	2°24'	1,25	»
1 h.	2°18'	1,30	»
1 h. 30 m.	2° 8'	1,32	80
2 h. 30 m.	2° 4'	1,27	»
II. Récolte avril 1933.			
0	+ 6°22'	0	»
1 h.	2°40'	1,41	»
1 h. 30 m.	2°40'	1,41	94
3 h.	2°32'	1,39	»

Donc le milieu devient réducteur, cependant que la déviation, tout en restant positive, diminue beaucoup, de près des 2/3 de sa valeur initiale. L'hydrolyse complète demande plus d'une heure.

Ces premiers résultats sont très suggestifs, si on les rapproche

de ceux qu'obtint E. GUÉGUEN [34] en analysant les Rhodophycées marines. L'extrait de *Rhodymenia palmata* renferme un corps très dextrogyre, respecté par la sucrase, hydrolysé par les acides forts (HCl 5 %) en 1 h. 15 environ. On sait que H. COLIN et E. GUÉGUEN ont réussi à préparer ce corps à l'état cristallisé, et l'ont nommé « floridoside ». Il est sucré, soluble dans l'eau et l'alcool, non réducteur; son pouvoir rotatoire est $+160$ (pour le produit anhydre); il est formé d'une molécule de galactose α unie à une molécule de glycérol.

Nous avons pu disposer d'une certaine quantité de ce glucide à l'état pur, et nous en avons répété l'hydrolyse. Voici le résultat obtenu :

Temps d'hydrolyse	Déviation	Réducteur % exprimé en galactose	$[\alpha]$
0	$+6^{\circ}43'$	0	»
1 h. 15 m.	$2^{\circ}31'$	»	»
1 h. 45 m.	$2^{\circ}27'$	1,54	79,6
2 h.	$2^{\circ}27'$	»	»

La ressemblance est manifeste entre cette hydrolyse et les précédentes.

Cependant, dans le cas des *Lemanea*, le pouvoir rotatoire spécifique, en fin d'expérience, s'écarte souvent de la valeur 80 correspondant au galactose; il oscille entre 70 et 90. Le rapport entre les déviations initiale et finale, égal à 2,8 dans le cas du floridoside, s'est aussi montré variable, entre 2,5 et 3.

Ces différences ne sont-elles pas attribuables à l'insuffisante purification des liqueurs ? Celles-ci, bien que déféquées à fond par l'acide phosphotungstique, avaient pris une teinte rougeâtre, après une demi-heure seulement d'hydrolyse. Il fut nécessaire de les filtrer sur noir, ou de les diluer, ce qui diminue la précision des lectures au polarimètre.

*
**

On s'est donc efforcé de mieux purifier les liqueurs, avant l'hydrolyse. La solubilité du principe dextrogyre dans l'alcool fort, à chaud, autorise le procédé suivant.

La liqueur déféquée est évaporée à sec, sous pression réduite. On obtient une masse jaune-rouge, se ramollissant à chaud, hygroscopique.

pique, pétrie de cristaux de KCl, et, pour cette raison, d'une amertume extrême. En agitant un certain temps dans l'alcool à 85, à l'ébullition, on dissout une partie du corps dextrogyre; on décante à chaud, laissant dans la masse pâteuse une grande quantité de pigments, de sels et de matières azotées.

La solution alcoolique est évaporée, et l'on reprend par l'eau. La liqueur obtenue, soumise à l'hydrolyse, jaunit beaucoup moins que l'extrait non purifié, et se prête à des observations plus précises. En voici un exemple (*Lemanea nodosa*, juillet 1930).

Temps d'hydrolyse	Déviation	Réducteur % exprimé en galactose	$[\alpha]$
0	+ 5°19'	0	»
30 m.	2°34'	1,08	»
1 h. 20 m.	1°55'	1,28	70
1 h. 40 m.	1°51'	1,29	71

Malheureusement, la précision est obtenue au prix d'une perte énorme de produit : les trois quarts sont retenus dans la mélasse.

Disposant de quelques kilos d'algues, nous avons pu répéter plusieurs fois la même purification, en remontant progressivement le titre de l'alcool jusqu'à 95°. L'hydrolyse du produit le mieux purifié suit la marche que voici :

Temps d'hydrolyse	Déviation	Réducteur % exprimé en galactose	$[\alpha]$
0	+ 3°18'	0	»
1 h.	1°18'	»	»
1 h. 20 m.	1° 8'	0,73	»
1 h. 40 m.	1° 8'	0,73	77

**

On a purifié de même un extrait de *Sacheria fucina* (récolte de mai 1931), dont l'hydrolyse, après simple défécation, donnait des résultats trop imprécis. Il faut employer ici, d'emblée, l'alcool très fort (90-95°), car l'alcool à 85° dissout en totalité la substance desséchée.

L'hydrolyse après purification, donne le résultat suivant :

Temps d'hydrolyse	Déviation	Réducteur % exprimé en galactose	$[\alpha]$
0	+ 7°25'	0	»
1 h.	2°43'	1,60	»
1 h. 15 m.	2°33'	1,75	73
2 h.	illisible	1,77	»

**

Après cette étude des extraits purifiés, il est possible de comparer, de façon précise, le floridoside et le produit dextrogyre des Lémnéacées. Le lecteur a déjà remarqué que, pour ce dernier, le pouvoir rotatoire, après hydrolyse, est systématiquement inférieur à celui du galactose (soit $+ 84,36 - 0,21 t$, c'est-à-dire $+ 81$ à 15°). La valeur qui s'en écarte le moins ($[\alpha] = + 77$) a été trouvée dans le cas d'un extrait purifié à fond, par reprise à l'alcool jusqu'au titre de 95° . Les valeurs dépassant 80 n'ont pas été retrouvées.

Dans les extraits d'algues hydrolysés, il n'est guère possible de déceler de petites quantités de glycérine, mais on peut obtenir la *galactosazone*, bien que la richesse du milieu en sels soit très gênante. En vue de cette préparation, il faut effectuer l'hydrolyse de l'extrait au moyen de l'acide sulfurique, facile à éliminer sous forme insoluble (SO_4Ba). Nous avons obtenu plusieurs fois, mais avec beaucoup de peine, les cristaux aplatis et groupés en rosette, caractérisant la *galactosazone*; cependant — résultat inattendu — ils étaient mélangés de cristaux très semblables à la *glucosazone*.

En somme, nous avons précisé les différences entre les extraits de *Lemanea* et ceux de *Rhodymenia*; mais la présence de floridoside, dans les premiers, est une hypothèse très admissible.

C) Hydrolyse par l'autolysat de levure de brasserie

Abandonnons à l'autolyse, sous toluol, de la levure basse de brasserie délayée dans l'eau. Au bout de quelques mois, on dispose d'une liqueur claire qui jouit, entre autres, de la propriété suivante : ajoutée en petite quantité à du floridoside, elle l'hydrolyse complètement, en deux ou trois jours, à 37° (GUÉGUEN [35]). Cette « α — galactosidase » peut se conserver plusieurs années. Nous nous sommes servi d'un autolysat d'un an, non réducteur et à peu près inactif sur la lumière polarisée, même après hydrolyse par les acides.

Un extrait de *Lemanea nodosa* (récolté en août), déféqué au plomb, est additionné d'autolysat à raison de 20 cm^3 pour 100 cm^3 d'extrait. Le pH est très voisin de 7. On place dans l'étuve à 37° . Chaque jour on examine au polarimètre, après filtration, car la liqueur se trouble. Il se produit une hydrolyse :

d'hydrolyse Temps	Déviations	Réducteur % exprimé en galactose	$[\alpha]$
0	+ 3°28'	0	
1	2° 8'	»	
3	1°48'	»	
4	1°48'	»	
10	1°48'	0,70	128

Après quoi l'attaque fermentaire ne progresse plus. Mais l'hydrolyse peut être continuée par l'action des acides. Le dixième jour, prélevons dans plusieurs tubes 2 cm³ de la liqueur, et traitons par l'acide sulfurique à 2 %. La quantité de réducteur augmente, et l'on atteint le terme de l'hydrolyse déterminé dans le précédent paragraphe.

15 m.	0,92
30 m.	0,95
45 m.	0,92

Pour quelle raison l'hydrolyse diastasique reste-t-elle incomplète ? Ne faut-il pas incriminer les sels, qui, présents en forte proportion dans le milieu, précipitent partiellement l'autolysat ? Il ne le paraît pas, car, au dixième jour, le ferment a gardé une activité appréciable.

En effet, ajoutons à la liqueur quelques cristaux de floridoside. Sitôt la dissolution, la déviation est :

$$+ 2^{\circ}48'$$

et le lendemain on lit $+ 2^{\circ}28'$

Le floridoside ajouté a été totalement hydrolysé (1).

Il semble donc exister, dans l'extrait de *Lemanea*, deux substances dextrogyres hydrolysables par les acides, mais dont l'une seulement est tributaire de l'autolysat.

Dans l'expérience précédente, le pouvoir rotatoire spécifique, au terme de l'action diastasique, est voisin de 130. En étudiant la liqueur de seconde extraction alcoolique L₂ des mêmes algues (cf. p. 11), on a trouvé la valeur 111, et 108 pour l'extrait L₁ des *Lemanea* récoltés en avril. Les extraits de *Sacheria*, plus colorés et moins riches en sucre, n'ont pu être étudiés avec la même précision ; il est certain cependant que l'autolysat les hydrolyse, mais partiellement.

(1) Il ne faut pas étudier l'hydrolyse diastasique d'extraits trop concentrés ($a > 6^{\circ}$ par exemple, pour *Lemanea*). L'action inhibitrice des sels est alors très marquée. L'hydrolyse reprend d'ailleurs quand on dilue le milieu, en maintenant fixe le % d'autolysat. — On a constaté que l'autolysat est peu sensible au KCl pour les concentrations inférieures à 2 p. 100.

D. — *Conclusion.*

En résumé, le constituant dextrogyre des Lémanéacées fait penser au floridoside par son pouvoir rotatoire élevé et l'allure de son hydrolyse sous l'action des acides. Cependant il s'en distingue en ce que :

1°) Le pouvoir rotatoire, après hydrolyse complète, est sensiblement inférieur à celui du galactose ;

2°) L'hydrolyse par l'autolysat de levure basse reste incomplète.

Il ne semble possible d'identifier ce principe qu'après l'avoir obtenu à l'état de pureté. Cette préparation fait l'objet du prochain chapitre.

CHAPITRE TROISIEME

LA PRÉPARATION DES PRINCIPES SUCRÉS A L'ETAT PUR, ET LEUR IDENTIFICATION

I. — TECHNIQUE

Les filaments fructifères des Léménéacées atteignent leur pleine maturité au mois de juillet, ou même en août; c'est alors qu'elles sont le plus riches en glucides et qu'il convient de les recueillir. Nous n'avons pas encore pu suivre régulièrement les variations saisonnières de la teneur en principe dextrogyre, mais ces variations sont manifestes dans les quelques données ci-dessous. Les déviations polarimétriques indiquées correspondent à l'épuisement complet des thalles par l'alcool.

<i>Lemanea nodosa</i>		<i>Sacheria fucina</i>
17 avril 1933	1°49'	17 avril 1933 + 13'
19 juillet 1930	2°36'	19 juillet 1930 1°10'
3 août 1932	3°54'	

Etudiant les *Rhodymenia*, GUÉGUEN [36, p. 40] obtenait des déviations bien supérieures (en 1927 maximum 17°10'; en 1928 minimum, en janvier, 0°52', maximum, en août, 27°20). S'il faut parler du floridoside à propos des *Lemanea*, on ne peut guère compter sur des teneurs dépassant 1 % du poids frais.

La faible proportion du sucre devant les impuretés diverses, les sels surtout, en rend l'extraction très laborieuse; les pertes sont considérables; aussi fallut-il traiter environ 12 kilos d'algues pour obtenir quelques grammes de produit pur.

*
**

La fixation et les épuisements à l'alcool sont une technique longue dont on peut se passer dans le cas présent. Il est possible d'épuiser les algues, sitôt la récolte, par l'eau bouillante : on les y plonge *entières*, et on maintient une dizaine de minutes la température au voisinage de 100°, tout en agitant. Dans ces conditions, les filaments étant entiers, il ne diffuse que très peu de gomme et pas du tout de glycogène, mais le produit dextrogyre se dissout, plus facilement que dans l'alcool. Il faut se garder de fractionner les thalles, ce qui entraînerait la dissolution d'une grande quantité de matière gommeuse, éventuellement accompagnée de glycogène, et la dispersion des spores.

La chlorophylle reste, bien entendu, dans les algues, mais le pigment rouge diffuse, devenant brunâtre par la chaleur.

On a fait l'essai de ce procédé sur 1290 gr. de *Lemanea nodosa*, récoltés en avril 1933, qui furent traités par 2 litres 5 d'eau distillée. On décante 2 litres 29 de liqueur rougeâtre, non visqueuse, qu'il est possible d'examiner au polarimètre après filtration sur amiante. On lit + 46'; soit, en ramenant au volume 1290 cm³.

$$\alpha_1 = 1^{\circ}21'$$

Avec la liqueur de FEHLING, cet extrait ne donne lieu à aucune réduction, mais à un précipité floconneux. L'acide sulfurique produit un léger floculat, de nature azotée semble-t-il; les alcalis, surtout à chaud, provoquent un floculat plus abondant, soluble dans l'acide acétique, en partie minéral (magnésie...); — par l'acétate basique de plomb, on obtient un précipité volumineux, dont la séparation modifie très peu l'activité optique de la liqueur.

Un second et un troisième traitement nous donnent :

$$\alpha_2 = + 34'$$

$$\alpha_3 = + 9'$$

Un quatrième fournit, après concentration 320 cm³ de liqueur légèrement positive.

La déviation totale $\alpha_1 + \alpha_2 + \alpha_3$ atteint donc 2°4', valeur notablement supérieure à celle qu'on obtient par épuisement alcoolique. Il faut remarquer qu'on évite ici les pertes par défécation, et que les lectures polarimétriques sont imprécises.

On a également épuisé par l'eau 550 gr. de *Sacheria fucina*. On a trouvé $\alpha_1 + \alpha_2 = 22'$, au lieu de 13', par épuisement à l'alcool.

*
**

Si l'on ne peut traiter les Algues sitôt la récolte, il n'y a pas inconvénient à les faire sécher à l'air, pour les épuiser à loisir plus tard, par l'eau ou l'alcool : le produit destroyre ne suit pas d'hydrolyse sensible au cours de la dessiccation. 250 gr. de *Lemanea* ont été ainsi séchés séparément, au moment de la récolte d'avril; au mois de septembre ils furent épuisés par l'alcool. Après défécation par la baryte, la déviation observée fut

$$\alpha_1 = +1^{\circ}57'$$

6 cm³ de la liqueur ne contenaient pas trace de réducteur.

On a donc pu utiliser les algues ainsi séchées, en vue de la préparation des sucres; elles ont été épuisées de préférence par l'eau, comme les algues fraîches.

*
**

Le problème de la purification des extraits nous propose à éliminer des matières organiques et des sels. Les deux tâches sont en étroite dépendance : les procédés de défécation ne doivent pas introduire de sels nouveaux; la présence des sels limite la défécation. Il faut donc avoir recours, d'abord et autant que possible, aux agents physiques capables d'éliminer ensemble les deux sortes d'impuretés, ainsi l'alcool. Pratiquement, on ne peut utiliser en premier lieu l'alcool que pour les extraits aqueux exempts de chlorophylle. On a donc adopté la technique suivante :

1) *Traitement des extraits aqueux*

Les extraits aqueux de *Lemanea* sont concentrés tels quels à douce température, jusqu'au volume de 70 cm³ environ par kilo d'algues (de juillet). La liqueur obtenue a la couleur du café; elle est amère. Lorsqu'elle est encore chaude on ajoute peu à peu et en agitant, de l'alcool à 95. Il se produit bientôt un précipité; on continue l'addition d'alcool jusqu'à un volume environ, puis on expose au froid modéré (+ 5°...). A intervalle de quelques jours, on enrichit progressivement en alcool. Les parois du flacon se couvrent de cristaux de KCl. Au bout de quelque temps la liqueur est devenue jaune clair, limpide; au fond, se trouve une masse onctueuse jaune rouge, mélange de

pigments, de matières azotées et gommeuses, riche en sels, mais contenant aussi une certaine proportion de corps dextrogyre. La faible solubilité de ce dernier impose une limite à la purification par l'alcool, et les ménagements que nous signalons.

On a traité ainsi, par exemple, l'extrait aqueux de 1450 gr. de *Lemanea* récoltées en août. Réduit à 100 cm³, il fut progressivement additionné de 2 volumes d'alcool à 95. Lorsque le dépôt de sel parut terminé, la liqueur fut décantée et l'alcool chassé : on disposait alors d'une liqueur dont la déviation, rapportée à 1450 cm³, était de 2°26'.

Le précipité fut repris par l'eau, où il ne se dissout qu'en petite partie. Cette solution, desséchée, fut traitée jusqu'à épuisement par l'alcool à 80 bouillant. La déviation de la liqueur obtenue, sous le volume de 1450 cm³, était de 23'. Le précipité avait donc retenu 13 à 14 % du produit dextrogyre.

Après séparation du précité, qui est conservé, les liqueurs ainsi purifiées par l'alcool sont déféquées au moyen de l'acide phosphotungstique. Dans l'exemple que nous citons, le volume fut, à cette fin, amené à 150 cm³ environ.

2) *Traitement des extraits alcooliques*

Après évaporation de l'alcool, on défèque modérément par l'acide phosphotungstique. Puis on concentre sous vide, à consistance presque sirupeuse. On ajoute alors de l'alcool fort, comme il est indiqué plus haut. Par rapport au cas précédent, l'ordre des opérations est interverti ; le résultat est souvent moins bon.

*
**

A la suite de ces traitements, la purification reste très incomplète. On a tenté de la continuer au moyen de l'alcool, selon le procédé indiqué au précédent chapitre, savoir dessiccation et reprise par un peu d'alcool fort, décantation et évaporation de la solution alcoolique, nouvelle reprise par de l'alcool en moindre volume, ou de titre supérieur, et ainsi plusieurs fois de suite. Nous espérons obtenir bientôt une solution assez pauvre en sels et riche en sucre pour que celui-ci pût cristalliser.

Après plusieurs mois d'essais, il fallut y renoncer. La solubilité du chlorure de potassium dans l'alcool, déjà notable quand le sel est

pur, augmente beaucoup en présence du sucre, surtout à chaud, même dans l'alcool presque absolu. D'autre part, après chaque dessiccation, une petite fraction seulement de la matière peut être dissoute utilement, même après ébullition prolongée. Il en résulte que la liqueur la plus pure que l'on peut obtenir ne contient guère moins de sel que de sucre, et encore l'obtient-on en quantité minime.



Il faut donc recourir à un procédé chimique pour éliminer les chlorures. Lorsqu'on soustrait d'un milieu les ions Cl ou K par les réactions de précipitation connues en analyse, on les remplace nécessairement par d'autres ions ou par des radicaux. La présence de ceux-ci serait au moins aussi gênante pour nous : on ne peut songer à utiliser le nitrate d'argent, ni l'acide chloroplatinique, pas plus que les acides perchlorique ou tartrique.

Le problème paraissait sans issue, quand une note de G. AUSTERWEIL [37], au sujet de certaines zéolithes, nous fournit, de façon très opportune, une élégante solution. Ch. JEANPROST a exposé l'application du procédé dans un article (1) que nous avons consulté avec profit.

On sait que les zéolithes (naturelles ou synthétiques) sont des silicates complexes, très peu solubles dans l'eau, dont un métal de la molécule est susceptible de permuter avec un ion métallique d'une solution ambiante. On leur donne souvent, pour cette raison, le nom de permutites ou d'échangeurs de bases. Leur usage est courant pour l'adoucissement des eaux naturelles. Ainsi, lorsqu'on filtre une eau séléniteuse à travers une colonne de zéolithe sodique, la zéolithe devient calcique et le sodium passe en solution à la place du calcium.

La note citée ci-dessus expose les propriétés conférées aux zéolithes par un choix judicieux de leur métal mobile. Introduites dans la solution d'un sel, ces zéolithes appropriées provoquent le passage de l'anion aussi bien que du cation à l'état de combinaisons insolubles. Dès lors la molécule entière du sel est éliminée de la liqueur.

Considérons par exemple une zéolithe argentique. Si l'on agite dans la solution d'un chlorure — soit KCl — il se forme du chlorure d'argent et de la zéolithe potassique. Ces deux corps étant insolubles, la réaction est totale dans le sens indiqué. On possède ainsi le moyen

(1) Bull. chim. Sucre. Distill. 49, 1932, p. 206.

d'éliminer complètement les chlorures contenus dans une liqueur, sans y introduire aucun corps soluble.

Nous avons appliqué cette méthode avec plein succès aux extraits de *Lemanea*, si riches en KCl.

La zéolithe synthétique de la société Zerhyd (10, avenue George V, à Paris) a été traitée par une solution de NO^3Ag . Le silicate saturé d'argent est ensuite soigneusement lavé; il se conserve bien à l'obscurité. Il ne diffère pas par l'aspect du produit sodique : c'est un sable grossier blanc nacré.



Après la purification par l'alcool et la défécation, les extraits d'algues sont agités au contact de la zéolithe argentique. Il se produit bientôt un trouble blanc de chlorure d'argent, qui peu à peu devient un véritable précipité, bleuissant. De temps en temps, on filtre quelques gouttes de la liqueur, qu'on additionne de nitrate d'argent : on constate ainsi que la réaction des chlorures diminue d'intensité, jusqu'à disparaître. A ce moment, la liqueur ne contient pas non plus de potassium, baryum, magnésium ou argent. On filtre, et on lave la masse de zéolithe et de Ag Cl , pour éviter toute perte. S'il subsiste un louche dans le filtrat (AgCl colloïdal, Ag réduit) on traite par un courant de H^2S , et on filtre sur amiante.

Ce traitement donne d'excellents résultats : les chlorures sont radicalement éliminés, et la perte de produit est très faible. Cependant, il n'est applicable qu'à des extraits déjà purifiés comme on l'a indiqué, au moins par un traitement à l'alcool fort. Autrement, le travail de la zéolithe paraît interminable : dans un milieu trop riche en matières organiques, l'activité de celle-ci est considérablement diminuée. Il faut donc d'abord déféquer, puis éliminer les chlorures en liqueur suffisamment étendue.

Après ces opérations, les extraits, à peu près exempts de sels, contiennent encore des impuretés organiques qui les colorent en jaune ambré. On les concentre, et on défèque par l'acétate basique de plomb, opération très efficace en l'absence de chlorures. L'excès de réactif est éliminé au moyen de H^2S , et l'on amène, en évaporant sous vide, à consistance sirupeuse. Jaune clair, nettement sucré, le sirop est prêt pour la cristallisation.

Par exception les cristaux apparaissent au cours de la concentration ; le plus souvent, ils se montrent au bout d'un jour ou de quelques jours.

II. — DESCRIPTION DES PRODUITS CRISTALLISES

Sur les parois des ballons, on pouvait distinguer des prismes allongés, groupés autour d'un centre, et, ailleurs, de petits prismes courts, isolés. Plusieurs lots d'algues avaient été traités séparément, et les sirops plus ou moins purifiés : certains laissaient déposer l'une des formes seule, d'autres présentaient les deux espèces de cristaux juxtaposées. S'agissait-il d'un corps dimorphe, ou de deux combinaisons différentes ?

L'heureux partage des cristaux et leurs différences microscopiques permirent de faire deux lots. Les prismes allongés étaient l'espèce de beaucoup la plus abondante; il nous fut facile de les identifier au *floridoside*.

A) *Le floridoside*

Après deux nouvelles cristallisations dans l'eau, le produit presque blanc fut repris par l'alcool à 95° bouillant. Par refroidissement lent apparurent de petits cristaux groupés en oursins, que l'on recueillit et lava rapidement à l'alcool à 80°. On obtint environ 8 grammes de produit sensiblement pur, présentant les propriétés suivantes :

1° Caractères cristallographiques. — D'après M. GAUDEFROY, les cristaux nés dans l'eau sont des prismes orthorhombiques, à biréfringence forte et négative. L'un d'eux, placé dans une solution saturée de floridoside, s'y accroît; de même, un cristal de floridoside s'accroît dans une solution saturée du corps à l'étude.

2° Le produit renferme 6,9 % d'eau de cristallisation, dans laquelle il fond à 86-87° (détermination au tube capillaire).

La saveur est nettement sucrée, sans amertume.

0 gr. 300 de cristaux furent dissous dans 20 cc. d'eau. La liqueur obtenue est dextrogyre $\alpha = +4^{\circ}32'$. D'où le pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]_D = +151$ (floridoside : 149-150).

3° Composition chimique.

La même liqueur fut additionnée de 5 %, en poids, d'acide sulfurique, et portée au bain-marie bouillant. Voici la marche de l'hydrolyse :

Temps	Déviation	Réducteur % (en galactose)	$[\alpha]_D$
0	+ 4°23'	0	
1 h	1°32'	—	
1 h 10 m	1°30'	0,96	78

L'action de l'autolysat de levure basse conduit au même résultat, en deux jours, à 37°.

En vue d'identification des produits d'hydrolyse, deux grammes de cristaux furent dissous dans 20 cc. d'acide sulfurique à 0,2 %, et portés pendant une heure à 120°. La liqueur, qui jaunissait légèrement, fut neutralisée par le carbonate de baryum et concentrée à sirop. Au bout de deux jours, une cristallisation commençait. Après lavage rapide à l'alcool, puis à l'éther acétique bouillant, le produit cristallisé, de saveur sucrée, put être facilement identifié au *galactose*. Nous en avons obtenu plus de 800 mgr.

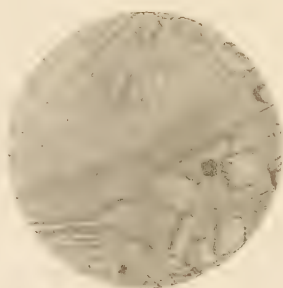


Fig. 1. — Tréhalose et Floridoside (gros: 10 D).

Dans la liqueur mère des cristaux, dont la saveur chaude est à noter, on a pu montrer la présence de *glycérol*. Dans ce but, on la dessécha sous le vide, et le résidu fut longuement agité dans 50 cc. d'éther acétique bouillant, solvant du glycérol, mais non du galactose. La substance extraite par l'éther présente les propriétés suivantes :

- a) elle est optiquement inactive, non réductrice.
- b) après oxydation par le brome, elle réduit nettement la liqueur de FEHLING à froid.
- c) chauffée avec du bisulfate de potassium sec, elle produit des vapeurs âcres, réduisant le nitrate d'argent ammoniacal.
- d) en présence de chlorure de benzoïde et de soude concentrée, elle donne naissance à de petites aiguilles cristallines caractéristiques (tribenzoate de glycérol).

Il est facile de conclure : le glucide de *Lemanea*, galactoside du glycérol, est bien identique au floridoside, dont il possède toutes les propriétés.

B) *Le tréhalose*

Dans la préparation microscopique figurée ici, le contraste est manifeste entre les prismes allongés du floridoside et les cristaux dont la nature reste à fixer. Ceux-ci sont orthorhombiques comme les premiers, mais courts, de forme bien différente, et surtout leur biréfringence est faible et positive.

Deux cristallisations dans l'alcool à 90-95 assurent une purification suffisante. Le floridoside, bien plus soluble, est facilement séparé. Nous avons obtenu 2 grammes de cristaux incolores, de saveur sucrée, dont voici quelques propriétés :

1° Ils renferment 9,5 % d'eau ; ils fondent en se déshydratant à 99-100° (au tube capillaire). Le produit anhydre ne se fluidifie plus ensuite qu'à 205-210°.

2° On dissout 0 gr. 300 de cristaux dans 200 cm³ d'eau. La déviation est, à 15°

$$\alpha = + 5^{\circ}15'$$

le pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]_D$ est donc +175, pour le corps hydraté.

3° La liqueur ainsi obtenue est hydrolysée au bain-marie, par l'acide sulfurique (5 % en poids).

Temps.	Déviation	Réducteur % (en glucose)	$[\alpha]$
0	5°5'		
3 h	2°8'		
6 h	1°34'		
8 h	1°26'	1,39	51

Après neutralisation, nous avons pu préparer la glucosazone typique.

4° Le corps étudié n'est pas hydrolysable par l'autolysat de levure basse.

Les premiers résultats obtenus nous ont déterminé à comparer,

dans une étude parallèle, les caractères du corps inconnu et ceux du *tréhalose* pur. Il devint évident que nous avions affaire à des produits identiques.

*
**

Les sirops de *Lemanea nodosa* contiennent donc deux glucides, le floridoside et le tréhalose. Le premier est de beaucoup le plus abondant. La présence de ces corps rend compte des caractères analytiques des extraits, exposés dans le précédent chapitre. Au floridoside les hydrolyses acides et diastasiques doivent leurs caractères d'ensemble; les anomalies de détail sont le fait du tréhalose.

Ce bioside est très difficile à hydrolyser par les acides, et livre exclusivement du glucose : au cours de l'hydrolyse des extraits d'algues, plus ou moins impurs, l'attaque du tréhalose peut rester incomplète et le pouvoir rotatoire « final » dépasser de ce chef la valeur 80. Dans le cas contraire, le glucose libéré peut suffire à abaisser ce pouvoir vers 70.

Le tréhalose n'est pas tributaire de l'autolysat de levure basse, au moins de l'autolysat vieilli. Ainsi s'explique l'arrêt observé au cours des hydrolyses diastasiques. On peut trouver là le principe d'un dosage approché du tréhalose. Ainsi, au mois d'août, la liqueur de fixation alcoolique de *Lemanea nodosa* renferme à peu près 5 fois moins de tréhalose (0.19 gr. % d'algues fraîches) que de floridoside (0.98 gr. %).

De nouvelles recherches seront nécessaires pour déterminer les rapports des deux sucres au cours de la végétation. L'hydrolyse diastatique ne peut rendre de services analytiques que si elle porte sur des liqueurs assez propres; or les traitements préalables risquent fort d'altérer les proportions des sucres. Si l'on pousse assez loin la purification par l'alcool, on élimine peu à peu des extraits le tréhalose, moins soluble que floridoside. Nous avons effectivement constaté (page 27) que les liqueurs les mieux purifiées par ce moyen ressemblaient davantage au floridoside pur. On s'explique de même façon que certains sirops, qui provenaient de la reprise des melasses, aient fourni en premier jet des cristaux de tréhalose

*
**

Un lot mélangé de *Sachria fucina* et *Lemanea nodosa* nous a donné les mêmes produits cristallisés que cette dernière espèce seule.

mais nous n'avons pas eu encore l'occasion de traiter les *Sacheria* à l'état pur. Il est probable cependant, d'après l'ensemble des précédents résultats, que le même mélange de sucres existe dans les deux plantes.

La caractérisation du floridoside chez les Lémnéacées donne une réponse à la question des rapports entre biochimie et systématique, qui se posait à nous au début de cette recherche. Les *Lemanea* ne sont certes pas parentes proches des *Rhodymenia*, et leur écologie est bien différente. Le floridoside, élaboré ici et là, exprime bien, semble-t-il, les similitudes profondes qui définissent les Rhodophycées.

*
**

Quant au tréhalose, c'est, à notre connaissance, la première fois qu'on l'extrait d'une algue, le sucre considéré comme tel par KYLIN, dans les *Rhodymenia*, étant en réalité le floridoside (GUÉGUEN [38], p. 25-26).

Commun chez les champignons, ce sucre semble très rare, au contraire, dans les plantes autotrophes. On l'a signalé chez quelques Phanérogames, mais à la suite d'une invasion parasitaire par des Champignons, ainsi dans une Avoine sauvage attaquée par un ergot (v. LIPPMANN [39]), ou bien en dehors des conditions normales de vie, ainsi dans un *Carex*, après une gelée survenue au mois de juillet (v. LIPPMANN [40]).

Les Sélaginelles sont les seules plantes vertes où la présence normale du tréhalose soit certaine. Il fut extrait d'abord par ANSELMINO et GILG [41] d'une espèce xérophile de l'Amérique tropicale, *Selaginella lepidophylla*, parvenue en Europe comme une curiosité (à la manière d'une rose de Jéricho). Plus récemment YAMASHITA et SATO [42] ont obtenu le même glucide à partir de 21 espèces de Sélaginellacées du Japon.

On sait que, chez les Champignons, le tréhalose est fréquemment accompagné de mannitol. La même association se retrouve-t-elle dans les *Lemanea* ? (1).

(1) Bien que le mannitol n'ait pas encore été trouvé dans les Algues rouges, les polyols ne sont pas étrangers à ce groupe; le dulcitol a été signalé dans *Iridaea laminarioides* (HASSID [43]); il existe aussi, accompagné de sorbitol, dans *Bostrychia scorpioides* (HASS et HILL [44]).

III. — RECHERCHE DU MANNITOL

La meilleure méthode de recherche des polyols est basée sur leur solubilité relativement grande dans l'alcool absolu bouillant : par refroidissement ils cristallisent, même en présence de sels.

Nous avons ainsi recherché le mannitol dans les sirops purifiés de *Lemanea*, mais sans succès.

La méthode optique n'a pas donné non plus de résultat : le pouvoir rotatoire n'est pas exalté en présence d'acide arsénieux. Dans les conditions de l'expérience, la quantité minima de mannitol décelable était de 0 gr. 05 % du poids d'algues fraîches.

Les algues séchées à l'air ne semblent pas élaborer de mannitol au cours de la dessiccation.

On s'est assuré qu'au mois d'avril les polyols n'existaient pas davantage, au moins en quantité décelable par cristallisation, tant chez *Lemanea* que chez *Sacheria*. Dans ce but, l'extrait alcoolique de 320 gr. de *Lemanea nodosa* est déféqué par l'acide phosphotungstique et évaporé à siccité complète dans le vide. La masse est fragmentée et agitée un quart d'heure au contact de 15 cm³ d'alcool absolu bouillant. On décante dans un petit ballon chaud et on laisse refroidir. Après plusieurs jours, on n'observe que des cristaux de sel et une petite quantité de précipité pulvérulent blanc. On a dissous alors, dans cette liqueur bouillante 0 gr. 02 de mannitol. Moins d'une heure après refroidissement, les aiguilles cristallines du polyol apparaissaient. Si l'on introduit du mannitol dans l'extrait d'algues avant de dessécher, il faut en ajouter au moins 0 gr. 5, soit 20 fois plus, pour obtenir une cristallisation dans l'alcool d'épuisement. Dans ces conditions, l'analyse ne permettrait pas de déceler moins de 0,15 % de mannitol, rapporté au poids frais. En raison de la coloration et de la complexité des liqueurs, la méthode polarimétrique n'est guère plus sensible.

Les mêmes essais furent poursuivis à partir de 440 gr. de *Sacheria fucina* récoltés également en avril. Dans ce cas l'alcool absolu bouillant entraîne une grande quantité de substances organiques qui précipitent en masse dès le début du refroidissement. On n'a pas trouvé trace de mannitol.

CHAPITRE QUATRIEME

LES MUCILAGES ET LE GLYCOGÈNE DES LÉMANÉACÉES

I. — TECHNIQUE

Lorsque les traitements à l'alcool bouillant, renouvelés à quatre ou cinq reprises, ont débarrassé les algues des sucres solubles, celles-ci sont devenues soit d'un vert très clair, soit d'un brun plus ou moins rougeâtre, selon l'abondance du pigment rouge, qui brunit par la cuisson. Inchangées pour le reste, elles montrant, sur une coupe, la matière gommeuse intacte, les spores et beaucoup de cellules du thalle toujours intensément colorables par l'iode.

On se souvient que la substance ainsi colorable en brun ou en violacé possède, pour ERRERA [45], les caractères chimiques du glyco-gène. Voici comment l'auteur lui-même expose la technique et les résultats de ses recherches :

« Douze touffes sporifères de *Lemanea annulata*, Kütz, conser-
« vées dans l'alcool, ont été finement découpées et écrasées dans un
« mortier. On fait bouillir la masse pendant une dizaine de minutes
« avec de l'eau et on filtre. Une petite portion de liquide a été addi-
« tionnée d'acide chlorhydrique et d'iodure double de mercure et de
« potassium : il ne se forme aucun précipité : le traitement au mer-
« cure est donc ici superflu. On concentre le reste de la solution (qui
« est à peine acide), au bain-marie, on filtre et on ajoute deux vo-
« lumes d'alcool absolu. Il se dépose, par le repos, un léger précipité
« grumelleux, d'un blanc à peine jaunâtre; on filtre. On lave le préci-
« pité à l'alcool et on le dissout dans l'eau. Cette solution est jaunâ-
« tre, opalescente, neutre; elle brunit par l'iode en solution dans
« l'iodure de potassium, perd en grande partie son opalescence par ad-
« dition de soude caustique, dissout en bleu pâle l'hydrate cuivrique
« sans le réduire à l'ébullition; elle acquiert, après un quart d'heure

« d'ébullition avec de l'acide sulfurique dilué, la propriété de réduire abondamment les réactifs de TROMMER et de BOETTGER, en même temps que l'opalescence a disparu. Le *Lemanea* renferme donc une sorte de glycogène...

« Comme j'avais obtenu fort peu du corps analogue au glycogène et que les fragments de *Lemanea* qui avaient servi à cette analyse renfermaient encore beaucoup de substance brunissant par l'iode, je les ai épuisés de nouveau, cette fois avec une solution étendue et tiède de soude caustique. Le rendement a été bien plus considérable, seulement le corps glycogénique avait subi par là de légères altérations dans ses propriétés : il faut surtout noter que sa solution, même assez concentrée, était à peine opalescente, et qu'elle se colorait en violet rougeâtre pâle par l'addition de très peu d'iode dans l'iodure de potassium. D'ailleurs elle prenait, par un peu plus d'iode, la même nuance brune que le glycogène hépatique, n'opérant pas une trace de réduction sur le réactif de TROMMER, mais le réduisant abondamment après un quart d'heure d'ébullition avec l'acide sulfurique faible » (*loc. cit.* p. 30-32).

Les algues ainsi traitées contenaient encore des sucres à petite molécule : l'auteur n'y a pas songé, semble-t-il; toutefois, éliminés avant l'hydrolyse, au cours de la précipitation alcoolique, ils n'ont pas été cause d'erreur. Sur *Lemanea nodosa* épuisé par l'alcool, nous avons repris l'expérience de ERRERA et retrouvé ses résultats.

Leur signification par contre nous a paru incertaine.

L'auteur passe sous silence la viscosité des extraits un peu concentrés : ils précipitent abondamment, sinon par l'iodure de mercure et de potassium, du moins par l'acétate basique de plomb : ils sont riches en matières gommeuses. Si l'on pratique l'épuisement aqueux des algues avec précaution, les hachant sans les broyer, on peut obtenir une liqueur semblable à celle que préparait ERRERA, à ceci près qu'elle n'est pas colorable par l'iode. On extrait de cette façon une matière mucilagineuse insoluble dans l'alcool fort, facilement transformable, par hydrolyse, en produits réducteurs. Ces caractères analytiques, retenus par ERRERA, n'appartiennent donc pas en propre au glycogène : en sorte que, pour établir la présence de ce glucide, l'auteur n'a pas apporté d'autre preuve que la seule réaction à l'iode. Celle-ci, on le sait, n'est aucunement spécifique (p. 9).

Entreprise comme un contrôle chimique, l'analyse de ERRERA reproduit simplement la réaction histochimique et n'apporte pas plus

de certitude. Il est donc nécessaire d'étudier de plus près les extraits d'algues, en particulier leurs caractères optiques et leurs produits d'hydrolyse.

Ces extraits ne sont pas observables au polarimètre, même après filtration; ils le deviennent après quelques instants d'hydrolyse sous l'action des acides; les déviations, observées dès que possible, sont souvent positives, quelquefois négatives. Il s'agit évidemment d'un mélange de plusieurs principes. La meilleure méthode analytique consiste à tenter, sur les thalles, des extractions fractionnées. On peut espérer, par ce moyen, préparer les substances mucilagineuses d'une part, le glycogène de l'autre, et, si vraiment ce glucide existe, le caractériser à l'état pur.

Dans ce but, nous avons été amenés à pratiquer successivement :

- 1° Le traitement par l'eau froide, puis chaude, des algues entières;
- 2° Le traitement par l'eau bouillante des algues hachées;
- 3° Le traitement par la potasse des algues hachées;
- 4° Le traitement par la potasse des spores pulvérisées.

Il est bien entendu que ces algues avaient été, au préalable, privées complètement des sucres solubles dans l'alcool, floridoside et tréhalose.

II. — EXTRAITS AQUEUX DES ALGUES ENTIÈRES

Soit que l'on traite les algues pendant plusieurs jours par l'eau froide, soit qu'on opère à chaud, au bain-marie bouillant une à deux heures, ou à l'ébullition, sur feu nu, un quart d'heure environ, les propriétés des extraits sont les mêmes. Ce sont des liqueurs assez fortement colorées par le pigment rouge plus ou moins altéré et devenu jaune brun. Elles sont pauvres en substances dissoutes : les parois de l'algue opposent aux colloïdes une barrière très difficilement franchissable. Même très concentré, l'extrait est peu visqueux, non colorable à l'iode. Sous l'action des acides forts, il devient un peu réducteur.

L'étude d'un tel milieu, à la fois très coloré et très dilué, n'est pas susceptible d'une grande précision, comme le montrent les exemples ci-dessous :

- 1) Un lot de *Lemanea nodosa*, récolté en août, pesant frais 325 gr.,

est traité au bain-marie bouillant par 1 litre 5 d'eau, pendant 1 h. 30. On décante, on concentre à 135 cm³. La liqueur très colorée, présente les propriétés suivantes :

a) Elle précipite par le plomb; après défécation légère, on peut l'examiner au polarimètre : elle est négative.

b) Portons-la au bain-marie bouillant, après addition de 2 % d'acide sulfurique. En quelques minutes, il se produit un précipité filtrable, et l'on peut suivre l'hydrolyse au polarimètre :

Temps d'hydrolyse	Déviation -
5 m	— 14'
1 h 30 m	— 10'
3 h	+ 4'
4 h	+ 4'

Ainsi les déviations observées sont très faibles. En vue d'obtenir une plus grande quantité de la substance, on a ensuite traité les mêmes algues par l'eau bouillante (sur feu nu), pendant 20 minutes. Le jus fut concentré à 20 cm³ et hydrolysé comme ci-dessus.

Temps d'hydrolyse	Déviation
5 m	— 6' (après dilution ¹⁰ / ₁)
3 h	0 } non dilué, mais après
4 h 30 m	+ 18' { filtration sur noir.

Le résultat n'est guère plus précis, tant le pigment est abondant. L'hydrolysats réduit à la fin la liqueur de FEHLING comme une solution de glucose à 0,61 %. Le pouvoir rotatoire spécifique serait donc voisin de 20. Nous avons plusieurs fois trouvé des valeurs notablement moindres.

2) De *Sacheria fucina* (récolté fin mai), on a obtenu un extrait analogue, un peu visqueux quand il est très concentré, non colorable par l'Iode, riche en sels et en matières azotées. Voici les résultats d'une hydrolyse (SO⁴H² 2 %, 100°).

Temps.	Déviation	Réducteur % (en glucose)
10 m	— 25'	0,15
45 m	0	0,41
2 h	0	0,60
2 h 30 m	»	0,70
3 h 30 m	+ 8'	0,65

A la fin, le pouvoir rotatoire est de l'ordre de 10.

Ces résultats montrent avec quelle difficulté le glycogène — ou le corps considéré comme tel — et les gommés diffusent hors des thalles. Ils expliquent la possibilité d'extraire à bon compte les sucres cristallisables au moyen de l'eau bouillante. Dans les recherches ultérieures, on pourra sans distinction prendre comme matériel les algues desséchées soit par l'eau, soit par l'alcool : elles diffèrent peu quant aux glucides qu'elles renferment encore.

III. — EXTRAITS AQUEUX DES ALGUES HACHÉES

Malgré le peu d'intérêt des produits obtenus, on peut toujours pratiquer utilement l'épuisement aqueux des algues entières : une grande quantité de pigment est ainsi éliminée. La diffusion des sels est malheureusement difficile dans ces mêmes conditions : avec les gommés, beaucoup d'éléments minéraux sont retenus à l'intérieur des thalles.

Les algues sont ensuite hachées en menus fragments et traitées par l'eau distillée bouillante pendant 20 à 30 minutes. De nombreuses spores sont dispersées dans le liquide ; on laisse reposer plusieurs heures, puis on décante et on exprime les algues dans un linge épais. On a ainsi traité, par 10 litres d'eau, un lot de *Lemanea nodosa* (récolté en juillet) qui pesait à l'état frais 2 kilos 5.

L'extrait, jaunâtre, est opalescent même après filtration ; concentré à feu doux, il devient visqueux. Additionné alors d'eau iodée, il ne prend aucune trace de la coloration brune qu'on observe avec les solutions diluées de glycogène. On peut s'assurer d'ailleurs que le contenu des cellules est resté, après le traitement, intensément colorable par l'iode. Des matières gommeuses non colorables ont été séparées : l'opération est donc facile, quand la fragmentation des algues n'a pas été poussée trop loin.

A concentration moyenne, l'extrait floccule par le carbonate de sodium et par la baryte, surtout à chaud ; après filtration, on peut examiner la liqueur au polarimètre ; elle est nettement dextrogyre. La soude caustique ne produit pas de floculat. Le sous-acétate de plomb, le nitrate mercurique, l'acide phosphotungstique déféquent abondamment ; l'iodure complexe de potassium et de mercure agit fort peu.

Très concentré, l'extrait précipite par l'alcool fort en grand excès : les substances gommeuses qu'il contient sont, dans ces conditions, bien plus solubles que du glycogène. La précipitation alcoolique opère entre ces substances un certain fractionnement, et nous a permis de les étudier avec précision. A cet effet la solution mucilagineuse, réduite au volume de 200 cm³ environ, est additionnée de 2 vol. d'alcool à 95. Il se forme un précipité (P1) blanc grisâtre, fibreux, qu'on sépare par filtration sur un linge fin. La liqueur alcoolique est ensuite concentrée à 15 cm³ environ, et additionnée à nouveau d'alcool fort. Il se produit un précipité (P2), qui est séparé comme le précédent.

On ne parvient pas ainsi à précipiter intégralement la substance en solution : il reste dans le filtrat (L) un corps hydrolysable dont nous indiquerons d'abord les caractères. On étudiera ensuite les précipités P1 et P2.

1) La liqueur L.

L'alcool est évaporé, et l'on reprend par un peu d'eau. La solution ainsi obtenue est jaunâtre, opalescente. Disposant d'une quantité minime de produit, on s'est borné à en faire deux parts qui ont été soumises aux essais suivants :

1° Une moitié est déféquée à fond par l'acide phosphotungstique. On obtient ainsi 18 cm³ d'une liqueur dextrogyre.

— 52'

L'hydrolyse par l'acide sulfurique à 2 % demande environ une heure, à l'autoclave (120°), et fournit une liqueur réductrice :

Déviatiou	Réducteur C ₆ (en glucose)	[α]
— 12'14'	0,58	19-20

2° L'autre moitié est hydrolysée telle quelle dans les mêmes conditions. On obtient une liqueur réductrice :

Déviatiou	Réducteur C ₆ (en glucose)	[α]
+ 8'	0,99	13

Forcément imprécis, ces résultats suffisent cependant à montrer l'existence d'un corps dextrogyre soluble dans l'alcool fort, précipitant partiellement par l'acide phosphotungstique et différent, d'après ses produits d'hydrolyse, des sucres précédemment reconnus.

2) *Le précipité P₂*

A en juger d'après les résultats des hydrolyses, ce précipité est moins complexe que P₁, c'est pourquoi nous l'examinerons en premier lieu. Séché et broyé, il se présente comme une poudre jaunâtre (1 gramme environ), très hygroscopique, sans réaction spéciale au contact de l'iode, un peu soluble dans l'alcool à 80 bouillant, soluble presque entièrement dans l'eau en une liqueur opalescente, visqueuse.

Additionnée d'acide sulfurique (2 %), cette liqueur s'éclaircit au bain-marie bouillant après 10 minutes, ce qui rend possible une lecture au polarimètre. Voici la marche d'une hydrolyse dans ces conditions.

Temps	Déviation	Réducteur % (en glucose)	[α]
10 m.	+ 1° 28'	—	
20 m.	1° 28'	—	
30 m.	1° 26'	—	
1 h.	1° 12'	0,56	
2 h.	1° 4'	—	
3 h.	56'	—	
4 h. 30 m.	44'	0,90	
5 h. 30 m.	40'	—	
6 h.	40'	0,90	37

Après cinq heures environ, l'hydrolyse ne progresse plus, même à l'autoclave. Quelle est la nature des substances libérées ? Faute d'une quantité suffisante de matière, nous n'avons pu résoudre cette question.

3) *Le précipité P₁*

A l'état sec, ce précipité pesait près de 9 grammes. C'est une substance grisâtre en poudre, non colorable par l'iode, riche en azote 2,6% et en cendres 10% (Cl, S, P, K, Mg, Ca, Fe). Dans l'eau, elle se redissout lentement et partiellement. L'examen optique direct est impossible.

L'acide sulfurique à 2 % en volume, à 100°, l'hydrolyse assez facilement, avec production de corps réducteurs. Voici la marche d'une

expérience, effectuée sur une solution à 3 % de matière gommeuse. Après cinq minutes, on a séparé par filtration des grumeaux de matière noirâtre, insoluble.

Temps	Déviation	Réducteur 0/0 (en glucose)	$[\alpha]$
0	illisible	0	
5 m.	+ 12'	—	
15 m.	+ 4'	—	
25 m.	0	1,00	
35 m.	+ 6'	—	
1 h.	+ 12'	—	
1 h. 30 m.	+ 16'	1,35	
2 h.	+ 24'	1,40	
2 h. 30 m.	+ 24'	1,45	
3 h. 15 m.	+ 26-28'	1,50	14
4 h.	—	1,50	.

Ainsi l'attaque paraît terminée après trois ou quatre heures : le poids du réducteur libéré, évalué en glucose, représente alors la moitié du poids de matière mis en œuvre. Au cours de la première demi-heure apparaissent les deux tiers de ce réducteur, tandis que la déviation polarimétrique, d'abord nettement positive, diminue; elle atteint un minimum, puis croît, cependant que la quantité de réducteur continue d'augmenter, mais lentement. La liqueur est jaune; les déviations sont faibles, et donc les modifications optiques sont difficiles à suivre avec précision; l'existence d'un minimum paraît cependant indubitable. Peut-être a-t-on affaire à un mélange de deux substances, l'une plus dextrogyre que ses produits d'hydrolyse, facilement attaquable; l'autre lévogyre, plus résistante, d'où naissent des corps dextrogyres.

On a tenté de fractionner le produit brut au moyen de l'alcool, suivant deux procédés :

1° On traite 2 gr. 5 de poudre par de l'alcool bouillant de titre de plus en plus bas. Il faut descendre jusqu'à 40° pour dissoudre une quantité notable de substance. La liqueur obtenue, opalescente, visqueuse, est décantée; on évapore et on reprend par un peu d'eau. On obtient ainsi une solution très visqueuse, à peine jaunâtre, opalescente, neutre. Elle se trouble légèrement par l'acide sulfurique; avec la soude, on n'obtient pas de précipité, mais seulement, à chaud, une

coloration jaune clair; la liqueur de Fehling, à chaud, provoque un flocculat, mais non pas le sulfate de cuivre seul, même concentré; la baryte produit un précipité blanc, d'aspect cireux, soluble dans l'eau chaude.

Voici la marche de l'hydrolyse (SO^4H^2 2 %, 100°) :

Temps	Déviations	Réducteur % (en glucose)	$[\alpha]$
5 m.	+ 1°55'		
25 m.	+ 14'		
1 h.	— 9'		
2 h.	+ 20'		
3 h.	+ 36'		
4 h.	+ 44'	3,10	
5 h.	+ 52'	3,15	13-14

On retrouve ici, avec une plus grande netteté, les caractères du produit total étudié précédemment.

Le traitement à l'alcool 40° a laissé un résidu grisâtre qui, desséché, pèse 0 gr. 90. On le dissout dans l'eau en proportion de 3 %, et on le soumet à l'hydrolyse dans les conditions habituelles.

Temps	Déviations
5 m.	+ 12'
15 m.	+ 5'
25 m.	+ 4'
1 h. 30 m.	+ 9'
2 h.	+ 12'

etc...

Ces résultats sont analogues à ceux que l'on obtient en hydrolysant le produit total.

Le procédé que nous avons employé n'aboutit donc pas à un fractionnement. Mais il est à retenir si l'on se propose de purifier rapidement les matières gommeuses : l'alcool entraîne peu les composés azotés.

Examinons plus en détail les caractères du produit ainsi purifié. D'après le poids de réducteur en fin d'hydrolyse, et la déviation polarimétrique observée au début, le pouvoir rotatoire initial dépasse + 30°. On a remarqué que la liqueur au minimum de déviation, après une heure environ, devient lévogyre. Quelle est la nature des produits d'hydrolyse ? A ce sujet, nous ne pouvons encore affirmer

que peu de chose. Il s'agit certainement d'un mélange de corps réducteurs dont les uns sont dextrogyres, les autres lévogyres. On a pu les séparer, au moins partiellement, de la manière suivante :

L'hydrolysât est déféqué par l'acide phosphotungstique, puis évaporé à sec. On reprend par l'alcool à 80 bouillant, pendant une dizaine de minutes; on laisse reposer deux jours, puis l'alcool est décanté et distillé. On reprend par un même volume d'eau la fraction soluble dans l'alcool et la partie non dissoute.

a) La première présente les caractères suivants :

$$\alpha = +1^{\circ} \quad R \% \text{ (en glucose) } 1,30 \quad [\alpha]_D = +38.$$

La liqueur se colore en rouge orangé en présence d'orcine, en milieu chlorhydrique; elle est neutre et ne précipite pas par SO^4H^2 . Nous n'avons pu obtenir d'osazone, et nous disposions d'une quantité trop faible du produit pour songer à le fractionner.

b) La seconde fraction (la moins soluble dans l'alcool) offre les propriétés suivantes :

$$\alpha = -28' \quad R \% \text{ (en glucose) } 0,55 \quad [\alpha]_D = -42.$$

Avec l'orcine, la réaction est bien moins intense, compte tenu de la dilution.

Par addition d'acide sulfurique à la liqueur neutre, il se forme un abondant précipité de sulfate de baryum. Lors de l'élimination de l'acide phosphotungstique par la baryte et le carbonate de baryum (1), une certaine quantité de ce métal était donc demeurée à l'état de sel soluble. Il persiste en proportion très appréciable après l'élimination des chlorures par un peu de zéolithe argentique; le milieu ne renfermant d'ailleurs pas de nitrates, on doit conclure à la présence de sels organiques de baryum. Il est possible qu'il s'agisse d'uronates car la réaction à la naphtorésorcine est nettement positive.

Ajoutons que l'élimination du baryum ne modifie pas le pouvoir rotatoire.

2° Un second procédé de séparation des matières gommeuses consiste à dissoudre dans l'eau le produit brut et à pratiquer la précipitation fractionnée par l'alcool à 95. Opérant sur 5 gr. environ, on a obtenu un précipité p1 pesant 4 gr. 4 et un précipité p2 pesant 0 gr. 55.

(1) Voir plus haut l'exposé de cette technique, p. 21.

Cette méthode est efficace et continue le fractionnement opéré une première fois déjà (cf. p. 48) : p2 ressemble à P2 et p1 à P1.

Voici par exemple les caractères de l'hydrolyse de la substance p2 (solution à 2,5 %) :

Temps	Déviati3n	Réducteur % en glucose	[α]
5 m.	+ 1°20'	traces	
15 m.	1°12'		
30 m.	1°12'		
1 h. 30 m.	1° 8'		
3 h.	1° 2'	1,00	
4 h. 30 m.	44'	1,05	35
5 h.	32'	1,15	23

Quant à la substance p1, elle présente des caractères analogues à ceux de P1 ; on observe au cours de l'hydrolyse un minimum négatif de la déviation polarimétrique.

**

Conclusions. — L'étude que nous avons ébauchée nous montre que les substances extraites de *Lemanea* par la technique décrite, n'ont aucun rapport avec le glycogène. Il s'agit d'un mélange de matières gommeuses. On peut en distinguer deux au moins :

1° L'une (P2) dextrogyre, ($[\alpha]_D > 80$). Au cours de l'hydrolyse, pénible, le pouvoir rotatoire diminue régulièrement, pour se fixer vers 30.

2° L'autre (P1) dextrogyre, ($[\alpha]_D > 30$). Au cours de l'hydrolyse, le pouvoir rotatoire passe par un minimum. Sa valeur finale est voisine de + 10.

Peut-être a-t-on affaire ici au mélange de deux corps :

L'un dextrogyre, dont l'hydrolyse facile s'accompagne d'une diminution du pouvoir rotatoire,

L'autre lévogyre, donnant des produits d'hydrolyse dextrogyres, et rappelant, par conséquent, la gomme qui diffuse lors du traitement de salgues entières par l'eau chaude (Cf. page 46.)

S'il existe des sucres parmi les produits de dégradation de toutes ces substances, nous ne pouvons encore déterminer lesquels, vu la difficulté d'obtenir leurs composés avec la phénylhydrazine. La faute

en est aux acides organiques réducteurs présents dans l'hydrolysât, et dont les sels de baryum sont entraînés même dans l'alcool absolu froid. Nous avons émis plus haut l'hypothèse qu'il s'agit d'acides uroniques. Cette opinion semble confirmée par le dégagement de gaz carbonique qui accompagne l'hydrolyse de la gomme sous l'action de HCl à 18 % : le poids de CO² dégagé représente 5 % du poids de gomme. (Au sujet de cette réaction, voir la thèse de RICARD [46] p. 168).

Si l'on attaque la matière gommeuse par l'acide iodhydrique, selon la méthode de MEYER, il se produit de l'iodure de méthyle : celle-ci contiendrait donc un groupement méthyle ou mésothyle.

Les procédés biochimiques d'analyse ne permettent pas d'apporter d'autres précisions. Le mélange de gommes a été mis en présence des divers milieux fermentaires ci-dessous indiqués, sans qu'aucun ait manifesté de pouvoir hydrolysant : orge germée, poudre de pancréas (Pancréatine Choay), suc gastrique d'escargot, poudre d'*Aspergillus niger*, luzerne germée, enveloppes de *Phallus* (1).

*
**

A partir des *Sacheria fricina*, traitées dans les mêmes conditions que les *Lemanea*, on a retiré de même des mélanges assez variables de gommes, non colorables par l'iode.

Voici les résultats obtenus en hydrolysant, tel quel, un extrait de *Sacheria* (SO⁴H² 2 %).

Temps	Déviation (au tube à 1 dm.)	Réducteur % en glucose	[α]
10 m.	+ 18'	0	
30 m.	+ 18'		
1 h.	+ 32'		
1 h. 30 m.	+ 28'	0,50	
2 h.	+ 20'	0,57	
2 h. 30 m.	+ 20'	0,60	
3 h. 30 m.	+ 20'	0,67	
autoclave 120°			
15 m.	—	0,85	
30 m.	+ 4' (?)	0,88	7,5

(1) Au sujet de l'activité fermentaire des enveloppes de ce champignon, voir H. COLIN et M. QUILLET, *Comptes rendus*, 195, 1932, p. 1313-1315.

Au cours de l'hydrolyse, le pouvoir rotatoire passe par un maximum.

*
**

Il peut arriver que, sans avoir poussé très loin la fragmentation des algues, on obtienne néanmoins des extraits mucilagineux colorables en brun rouge par l'iode : ils sont analogues à ceux que préparait ERRERA à partir des algues broyées. Ce fut le cas pour un lot de *Lemane nodosa*, pesant frais 1.450 gr., récolté en août et particulièrement riche en spores : il fournit 8 grammes de gomme brute sèche, se colorant légèrement par l'iode.

Ce produit diffère peu des précédents par les caractères de l'hydrolyse sous l'action des acides. L'extrait mucilagineux concentré, additionné d'alcool, fournit un précipité P1. Remise en solution aqueuse à 3 % et hydrolysée, la substance donne lieu aux observations suivantes :

Temps	Déviati ^{on}	en glucose Réducteur %	[α]
5 m.	+ 23'		
10 m.	+ 14'		
15 m.	+ 13'		
30 m.	+ 10'		
1 h.	+ 10'	1,35	
2 h.	+ 18'	1,50	
3 h.	+ 30'	1,60	
4 h.	+ 30'	—	
4 h. 30 m.	+ 28'	1,60	14

Ces résultats ne sont de nature à fournir aucune indication sur la présence éventuelle, dans la gomme, d'une petite quantité de glycogène.

L'action des amylases est plus intéressante à considérer. Mélangons une très petite quantité d'une amylase — du malt, du pancréas, ou rapidase — à quelques cc. de la solution mucilagineuse concentrée. Aussitôt celle-ci perd la propriété de se colorer en brun au contact de l'iode. Le changement est manifeste, mais quelle en est la signification ? On peut y voir l'indice de l'action spécifique de l'amylase sur une substance glycogénique. Cependant cette interprétation ne s'impose pas.

Considérons en effet une solution de *gélose* (1) fraîchement préparée et de concentration suffisante. Par addition d'eau iodée, elle prend une teinte rouge brun. Cette propriété disparaît si l'on ajoute à la solution une très petite quantité d'amylase. La *gélose* n'est cependant pas une matière amylacée, et n'a d'ailleurs pas subi de modification chimique, au moins pendant la durée très courte de l'expérience. Dans ce cas, la diastase est intervenue seulement par sa nature de matière albuminoïde : par suite de son affinité pour l'iode, elle masque la réaction de la *gélose*. Des albumines variées sont aptes, à des degrés divers, à produire le même effet. On peut facilement prouver qu'il en est bien ainsi. Evaporons presque à siccité quelques gouttes de la solution de *gélose* additionnée d'amylase. Après refroidissement, ajoutons une goutte d'eau iodée : la coloration rouge apparaît, aussi intense qu'en l'absence de diastase. Desséchée ou coagulée, celle-ci ne masque plus la *gélose*, qui donne dès lors avec l'iode la réaction habituelle.

Si l'on soumet aux mêmes essais une solution de *glycogène*, on constate que le milieu, qui se colorait en brun, perd cette propriété, mais cette fois d'une façon définitive : l'amylase a dégradé chimiquement le glucide.

Les changements dans la réaction à l'iode, notés de leur caractère définitif ou seulement transitoire, peuvent ainsi fournir des indications analytiques, faciles et rapides. L'extrait de *Lemanea* que nous étudions se comporte, à ce point de vue, comme une solution diluée de *glycogène*. Ce glucide y est donc probablement présent.

Il s'y trouve toutefois en si faible quantité, qu'on ne réussit guère à mettre en évidence le sucre réducteur issu de son hydrolyse diastatique. Et d'ailleurs, étudiant l'action de l'amylase sur ce milieu complexe et riche en gommes, on ne peut interpréter correctement l'apparition de réducteur sans avoir déterminé la nature de ce dernier. Certaines gommes en effet, comme la *gélose* de *Rhodymenia*, sont dégradées lentement, avec production de réducteur, par l'amylase du malt et la rapidase (GUÉGUEN [47], p. 58). Pour savoir à quel corps ont touché les amylases, il est indispensable d'identifier les produits d'hydrolyse.

(1) On trouvera, dans une note de SAUVAGEAU [48] l'indication de quelques sources de *gélose* colorable par l'iode. Nous avons employé une *gélose* du commerce, que nous avons vérifiée exempte de *glycogène*.

Cela suppose ces produits préparés en quantité suffisante. Nous sommes donc amenés à rechercher un procédé meilleur pour extraire des algues la substance colorable par l'iode.

Il convient de débarrasser d'abord, le plus possible, les algues des mucilages : le traitement par l'eau doit être, à cette fin, renouvelé cinq ou six fois au moins. Pour éviter d'entraîner en même temps la substance colorable, on fut amené à traiter d'une part les fragments de la plante mère, et de l'autre les spores, mises en liberté dans l'eau, et facilement séparables par décantation. Les spores en effet, offrent au solvant une surface de contact énorme, et sont aussi plus riches en matière colorable : celle-ci diffuse plus facilement. Par contre, on a pu, en bien des cas, soumettre les fragments de thalle à de nombreux épuisements — même à 120° pendant une heure — sans en tirer autre chose que des mucilages non colorables.

Occupons-nous d'abord de ces fragments, très appauvris maintenant en matière gommeuse.

IV. — EXTRAITS ALCALINS DES ALGUES HACHÉES

Le contenu de la plupart des cellules se colorant en brun foncé par l'iode, on s'est proposé de retirer le glycogène, au moyen de la potasse diluée, comme l'indique ERRERA. 850 grammes de *Lemanea* humides (poids après épuisement à l'eau), furent triturés au mortier et traités par 3 litres de lessive de potasse à 1 %, au bain-marie bouillant pendant 30 minutes. La liqueur brun foncé est ensuite décantée, concentrée à 150 cm³; on ajoute alors un volume d'alcool à 90. Il précipite une matière jaunâtre, fibreuse, élastique, facile à rassembler. On filtre; la solution entraîne les matières colorantes ainsi que des substances azotées (celles-ci flocculent en abondance par acidification).

Le précipité est débarrassé par lavage à l'alcool de l'excès d'alcali; séché, il pèse 4 gr. 5. Toutes choses égales, mais en employant l'eau pure au lieu de la potasse, le même poids d'algues livre seulement 0 gr. 83 d'extrait sec. L'eau pure dissolvait surtout la gelée issue des spores et qui remplissait la lumière des filaments de l'algue. Après action de l'alcali, on peut constater, au microscope, que les membranes de la plante mère elle-même sont partiellement dissoutes: les thalles sont devenus d'ailleurs très visqueux. Nul doute que la substance

extraite dans ces conditions représente, pour la plus grande part, des constituants gélifiés de la membrane.

Cette substance se dissout dans l'eau en une liqueur jaune rougeâtre, fluide à chaud, se prenant en gelée par refroidissement. Elle floccule par la baryte, l'extrait de Saturne, l'acide phosphotungstique; le réactif iodo-mercurique et la liqueur de FEHLING sont sans effet.

Sous l'action de l'eau iodée, la solution prend très nettement une teinte cuivrée ou violacée. L'action, quasi instantanée, d'une trace de poudre de pancréas, suffit à anéantir cette réaction, et d'une façon définitive. La présence du glycogène est donc probable; mais il est certain que la proportion de ce glucide est infime, dans une masse de gomme. L'action de la diastase, en effet, ne livre pas de réducteur en quantité appréciable, et les autres propriétés du mélange sont bien éloignées de celles du glycogène.

Le signe optique se manifeste encore dans des solutions assez diluées pour être lisibles au polarimètre : elles sont nettement *lévogyres*.

Voici la marche d'une hydrolyse par les acides (SO^4H^2 2 % à 100°). On a filtré dès que possible, pour séparer les grumeaux insolubles et permettre l'examen optique.

Temps	Déviatiôn	Réducteur % en glucose	$[\alpha]$
8 m.	— $1^\circ 40'$		
30 m.	— 1°		
1 h. 30 m.	+ 8'		
2 h.	+ 16'	1,50	
2 h. 30 m.	+ 20'	1,60	
3 h.	+ 20'	1,60	10

La courbe des variations du pouvoir rotatoire montre qu'il doit initialement dépasser un peu — 60, en valeur absolue.

Contrairement au cas des gommes étudiées jusqu'ici, il est facile cette fois de caractériser certains des produits d'hydrolyse, au moyen de la phénylhydrazine. Nous avons identifié par leur osazone le *galactose* et l'*arabinose*. La proportion de ces sucres semble dépendre des conditions de traitement des algues.

On n'a pu fixer encore la nature des corps, sans doute lévogyres, qui abaissent à + 10 le pouvoir rotatoire global des produits d'hydrolyse.

A côté de la galacto-arabane, le glycogène, avons-nous dit, ne semble exister qu'en proportion infime ; on n'en peut douter, puisque l'hydrolysât est trop pauvre en glucose pour fournir l'osazone de ce sucre.

Après le premier traitement par la potasse, on en a pratiqué successivement trois autres sur les mêmes algues, la concentration de l'alcali étant de 5 % et enfin de 20 %. Les produits obtenus furent analogues au premier, colorables par l'iode, très lévogyres ; après hydrolyse, les pouvoirs rotatoires $[\alpha]_D$ étaient respectivement 20, 23, 16.

Les tissus des algues sont alors profondément dissociés, mais la presque totalité du « glycogène » demeure incluse dans les cellules. Il est donc nécessaire de dilacérer celles-ci pour en extraire le contenu si peu diffusible. Les spores séparées se présentent, pour cette opération, comme le matériel de choix : le squelette tissulaire y est moindre et le glycogène plus abondant que dans les fragments de thalle que nous avons étudiés jusqu'ici,

V. — LE GLYCOGÈNE

Au cours de l'épuisement aqueux de plusieurs kilos de *Lemanea*, on a pu recueillir 60 grammes (poids sec) de spores presque pures, échappées des fragments de l'algue. Nous les avons écartées, en vue de l'extraction sélective des mucilages : les spores en effet, par ébullition prolongée dans l'eau pure, fournissent un extrait nettement colorable par l'iode. Cette liqueur cependant est pauvre en substance sèche ; le glycogène ne peut être extrait en quantité suffisante pour l'analyse si l'on ne brise d'abord les épaisses membranes qui s'opposent à sa diffusion.

Les spores délayées dans un peu d'eau forment une bouillie jaunâtre ; on y incorpore du sable siliceux ; la pâte obtenue est étalée en couche mince et mise à sécher vers 50°. Devenue pulvérulente, la substance est longuement broyée au mortier de porcelaine : il est préférable d'opérer à chaud, les spores étant alors plus cassantes. On suit au microscope les progrès du traitement, qui reste assez imparfait. On parvient cependant à briser un certain nombre de spores : leur contenu granuleux se dissocie, mais se dissout très mal dans l'eau froide.

La poudre obtenue, très fine et d'un blanc grisâtre, est agitée d'abord au contact d'un litre d'alcool à 70° bouillant, qui entraîne, à

peu près uniquement, une quantité appréciable de matière grasse. La majeure partie du sable peut être éliminée au cours de ce traitement. On délaye ensuite la poudre de spores dans un litre d'une solution de potasse à 5 % ; on fait bouillir pendant trois quarts d'heure en remuant constamment ; de temps en temps on compense l'évaporation en ajoutant de l'eau chaude. Le milieu devient brun-noir et très visqueux.

Après refroidissement, le liquide est séparé par centrifugation ; on agite la pâte restante dans un litre d'eau bouillante, pendant trente minutes ; ce second extrait est concentré à consistance visqueuse et joint au premier, et l'ensemble est additionné d'un volume d'alcool à 85 : il se produit un précipité abondant, d'aspect spongieux.

Le précipité est retenu sur un linge, essoré, lavé à fond à l'alcool faible tiède, séché vers 50°. Il est grumeleux, grisâtre ; il pèse 10 grammes. Dans l'eau, il se dissout presque entièrement ; la solution est visqueuse, trouble, précipite abondamment par les déféquants ordinaires ; elle se colore sous l'action de l'iode en brun violacé très intense ; elle n'est pas réductrice. En diluant, et après filtration, on peut l'examiner au polarimètre. On a pu lire, sous 1 décim. d'épaisseur, la déviation

$$\alpha = + 56'$$

Pour cette liqueur, la concentration, évaluée d'après le poids de réducteur libéré, exprimé en glucose, après hydrolyse complète, était de 0,883 p 100. D'où le pouvoir rotatoire $[\alpha]_D = + 105$. Il est donc très inférieur à celui du glycogène (environ 200).

Les caractères de l'hydrolyse sous l'action des acides ont été observés à partir d'une solution plus concentrée, illisible au début. 0 gr. 285 de substance sèche furent dissous dans 20 cm³ d'acide sulfurique à 2 %, et mis au bain-marie à 100°. On filtra dès que possible.

Temps	Déviation	Réducteur % en glucose	$[\alpha]$
6 m.	+ 2°20'		
1 h.	1°50'		
1 h. 30 m.	1°30'		
2 h.	1°16'		
2 h. 30 m.	1° 5'		
3 h.	1° 3'	1,26	41-42
3 h. 30 m.	1° 3'	1,24	

Si l'on exprime en glucose le réducteur libéré, le rendement pondéral est de 88 %.

La durée de l'hydrolyse est sensiblement la même que celle d'une solution de glycogène à concentration voisine; la réaction à l'iode persiste comme dans ce cas 20 minutes environ.

L'ensemble de ces résultats paraît se rapporter à un mélange de glycogène et de gomme lévogyre. Nous avons essayé un fractionnement, au moyen de l'alcool, par précipitation ou extraction ménagées, et par défécation partielle à l'acétate de plomb : ces procédés sont inefficaces. Par crainte de souiller de sels le peu de matière dont nous disposions, nous n'avons pas cru devoir employer le procédé d'adsorption partielle préconisé par CLAUTRIAU [49], et repris par HARDEN et YUNG (1).

Il fallait donc renoncer à préparer le glycogène lui-même à l'état de pureté. L'on s'est borné à caractériser ses produits d'hydrolyse sous l'action de l'amylase. La poudre fermentaire employée est la Pancréatine Choay : son pouvoir amylolytique est considérable; elle ne s'attaque pas aux gommes de *Lemanea*, non plus qu'à la gélose commerciale colorable par l'iode; enfin et surtout elle n'est pas réductrice.

L'extrait de spores, dissous dans 500 cm³ d'eau (pH = 7) est additionné d'un peu de Pancréatine (0 gr. 3). En quelques minutes, à la température ordinaire, la réaction colorée s'atténue et disparaît. Bientôt la liqueur montre un pouvoir réducteur très net, qui n'augmente pour ainsi dire plus après un séjour d'une quinzaine d'heures à 50°. L'opalescence persiste, du fait des impuretés.

On concentre alors sous pression réduite jusqu'à consistance épaisse, et on précipite par 2 vol. d'alcool à 90. Le flocculat volumineux est exprimé dans un linge et épuisé par l'alcool à 80 bouillant. On réunit les liqueurs réductrices; on évapore l'alcool, reprend par l'eau, défèque au moyen de l'acide phosphotungstique. La liqueur obtenue, légèrement jaunâtre, possède les caractères suivants :

Déviatiion (sous 1 décimètre)	Réducteur % en glucose	[α]
+ 8°6'	5,33	151

Son volume est de 60 cm³. Elle contient une petite quantité de

(1) HARDEN (A.) et YUNG (W.-J.) — Glycogen from Yeast. *Journ. Of. Chem. Soc.* 81, 1902, p. 1224,

chlorures, qu'on élimine grâce à la zéolithe argentique, avant de poursuivre l'analyse.

La plus grande partie de la liqueur est ensuite traitée au bain-marie bouillant par l'acide sulfurique à 2 %. La déviation diminue et le pouvoir réducteur augmente, comme l'indique le tableau ci-dessous :

Temps	Déviation	Réducteur % en glucose	$[\alpha]$
0	+ 5°30'	3,64	
2 h. 30 m.	2°24'	»	
2 h. 45 m.	2°22'	4,30	
3 h.	2°20'	4,34	53

Avec le reste de la liqueur on a pu constater qu'une hydrolyse analogue est obtenue, en trois jours, à 37°, sous l'action de la poudre de *Mucor*, riche en maltase; elle s'accomplit également, mais avec grande lenteur, en présence d'une forte quantité de poudre de pan-créas.

L'hydrolysât sulfurique fut neutralisé par la baryte et concentré sous vide. On obtint un sirop sucré qui, dès le lendemain, commençait à cristalliser.

La solution fraîche de ces cristaux présente la mutarotation; le pouvoir rotatoire diminue pour se fixer à + 52; on obtient avec la plus grande facilité une osazone insoluble dans l'eau chaude et dans l'alcool méthylique, fondant, au bloc Maquenne, à la même température que la glucosazone. Le sucre obtenu cristallisé est donc, évidemment, du *glucose*.

Ainsi, il existe bien, dans les *Lemanea*, une substance glycogénique, au sens étymologique du mot; là d'ailleurs se borne ce que nous en pouvons dire: pour en préciser les propriétés, il faudra l'obtenir à l'état pur, ce qui présente de grandes difficultés. La coloration brune qui prend naissance sous l'action de l'iode, justifie cependant l'appellation de glycogène dépariée à ce polyside.

Rappelons que le pouvoir rotatoire du mélange de glycogène et de matières gommeuses était de + 105. Celui du glycogène sera connu par différence si l'on détermine l'activité optique des gommes respectées par l'amylase. Précipitées par l'alcool, elles se redissolvent dans l'eau en une liqueur opalescente, lévogyre, dont l'étude est malheureusement pénible. Le pouvoir rotatoire est voisin de — 55-56, et

passé à $+ 8$ ou $+ 9$ après hydrolyse au moyen des acides. Ces données admises, on obtiendrait pour le glycogène $[\alpha]_D = + 162$. L'imprécision des lectures polarimétriques relatives aux gommages entache probablement ce résultat d'une erreur importante et lui laisse la seule valeur d'une indication assez vague (1).

CONCLUSIONS

Au cours de ce chapitre, nous avons reconnu, dans les *Lemanea*, la présence de plusieurs gommages et de glycogène. La composition des *Sacheria* est très analogue : le glycogène y est certain, et les gommages paraissent voisins dans les deux espèces.

La nature de ces gommages nous est encore très incomplètement connue. Il s'agit d'un mélange complexe comportant des éléments *dextrogyres*, et des substances défectuant difficilement par l'acide phosphotungstique. Sous ce rapport, le *Lémanécées* diffèrent beaucoup des *Rhodymenia*, où la matière gommeuse consiste avant tout en gélose, fortement lévogyre, très soluble dans l'eau pure.

Le glycogène n'a pas été préparé à l'état de pureté, mais caractérisé en toute certitude par la saccharification sous l'influence de l'amylase, qui donne naissance au glucose. La conclusion de ERRERA, légitimement mise en doute, peut être maintenant reprise, appuyée sur des preuves certaines. La nécessité de ces preuves est manifeste ; elle apparaîtra plus grande encore dans la suite, lorsque nous aurons étudié les *Bangia*.

L'examen au microscope montre l'abondance du glycogène dans les thalles de *Lemanea* à maturité. Un dosage, même approximatif, est impossible, vu les difficultés de l'extraction.

Considérons : un *Lemanea* ; — une Floridée riche en amidon (*Polyides rotundus*) ; — une Floridée dépourvue d'amidon (*Rhodymenia palmata*). Il est intéressant de comparer les premiers moments de l'hydrolyse sulfurique portant sur des thalles entiers de ces trois plantes, desséchés par l'alcool. On se reportera, à ce sujet, au travail de GRÉGUEN [50, p. 57], à qui nous empruntons les chiffres relatifs aux deux dernières espèces. Les déviations observées sont les suivantes :

(1) En admettant l'exactitude des chiffres trouvés, le mélange extrait des spores contenait environ 73 % de glycogène et 23 0/0 de matières gommeuses.

Temps d'hydrolyse	<i>Lemanea</i> <i>nodosa</i> (1)	<i>Polyides</i> <i>rotundus</i> (2)	<i>Rhodymenia</i> <i>palmata</i> (2)
5 m. env.	— 28'	+ 1° 5'	— 6'
25 m. —	+ 48'	+ 10'	— 1°10'
1 h.	+ 42'		
1 h. 30 m.	+ 40'		

Au début de l'hydrolyse, la liqueur de *Lemanea*, visqueuse, se prend en gelée par refroidissement et se colore en violet par l'iode; ces deux caractères disparaissent après 15 minutes. Les matières gommeuses lévogyres se dissolvent en quantité suffisante et assez rapidement pour imposer leur signe optique au milieu.

Les dextrines, colorables en rouge par l'iode, dominent au contraire dans le *Polyides*. L'hydrolysate de *Rhodymenia* ne se colore pas; la gélose, qui se dissout progressivement, le rend de plus en plus lévogyre.

Cette comparaison globale est très suggestive; mais, comme les principes non amylacés doivent différer beaucoup d'un cas à l'autre, on n'en peut tirer d'indication quantitative.

Une comparaison du même ordre met en évidence l'enrichissement saisonnier en glycogène, dans les *Sacheria*. On hydrolyse (après épuisement par l'alcool, bien entendu) des algues récoltées au début d'avril, non sporulées, et dont les tissus ne brunissent pas par l'iode, — et d'autre part des algues de même espèce, récoltées fin mai, en pleine sporulation.

Sacheria fucina

8 gr de thalles secs pour 100 cm³ SO⁴H² 2 %, 100°

Temps	18 avril		21 mai	
	Déviatiou	Réducteur %	Déviatiou	Réducteur %
5 m.	— 1° 50'	»	— 56'	»
30 m.	— 1° 42'	0,70	0	1,15
1 h.	— 1° 48'	1,60	+ 40'	2,20
1 h. 30 m.	»	»	+ 40'	2,60
2 h.	— 1° 36'	2,00	+ 56'	2,80

(1) Récolté en août, 10 gr. de thalles secs pour 100 cm³ SO⁴ H² 2 %, 100°.

(2) 5 gr. de thalles secs pour 60 cm³ SO⁴ H² 5 %, 100°.

L'hydrolysât des algues de mai est encore lévogyre au début, mais moitié moins que celui d'avril, les dextrines, après une demi-heure, compensant la déviation à gauche due aux matières gommeuses.



La présence du glycogène dans les *Lemanea* est en bon accord avec certaines particularités que nous avons relevées dans les précédents chapitres. Ainsi l'on s'explique la pauvreté relative de ces algues en sucres solubles, bien plus abondants dans les *Rhodymenia*. Chez ces dernières, le floridoside constitue seul les réserves glucidiques; dans les *Lemanea*, les sucres à petite molécule ne forment qu'une partie de ces réserves : le reste est représenté par du glycogène.

Un tel balancement entre deux catégories de glucides est manifeste chez les Floridées marines qui contiennent de l'amidon. H. COLIN et E. GUÉGUEN [51] viennent de le montrer à propos de *Furcellaria fastigiata* : pour cette algue, la teneur en floridoside est du même ordre que pour *Lemanea*.

Notons enfin que les *Lemanea* offrent un exemple nouveau de l'association du glycogène avec le tréhalose, d'ailleurs banale chez les Champignons. Retenons simplement le fait, puisque l'heure n'est pas encore venue d'en pouvoir juger le sens physiologique.

VI. — L'AUTOLYSE

On a vu qu'il n'apparaît ni sucres réducteurs, ni mannitol au cours de la dessiccation des *Lemanea*, à la température ordinaire. Mais quand on pratique l'autolyse, plaçant, aussitôt après la récolte, les algues dans l'eau pure sous toluol, plusieurs principes glucidiques sont hydrolysés, et le milieu devient fortement réducteur.

Ainsi 250 gr. de *Lemanea nodosa*, récoltés en août et mis à l'autolyse pendant un an et demi, ont fourni un extrait réducteur dont la teneur, évaluée en glucose et sous le volume de 250 cm³ était de 3,57 %. (16 % du poids des algues sèches).

Après défécation complète, au moyen de l'acétate basique de plomb ou de l'acide phosphotungstique, cette liqueur s'est montrée dextrogyre, le pouvoir rotatoire spécifique étant égal à 16-17. Purifié

et additionné d'acétate de phénylhydrazine, le produit ne fournit pas d'hydrazone; à chaud, on obtient des osazones que nous n'avons pu déterminer faute d'une quantité suffisante de matière : si l'on s'en tient à l'examen des formes, l'arabinosazone, au moins, paraît certaine. — Le produit ne semble pas contenir d'acides uroniques; nous n'avons pu y déceler de mannitol, ni par l'acide arsénieux, ni par cristallisation de l'alcool absolu. — Sous l'action de l'acide sulfurique, à chaud, la quantité de réducteur augmente de $1/5^e$ environ et $[\alpha]_D$ prend la valeur $+ 25$.

Ainsi le floridoside et le tréhalose ont été hydrolysés complètement, et la gomme en grande partie; un corps lévogyre, déféquant mal, a seul résisté aux ferments.

Les gaines mucilagineuses des spores n'ont d'ailleurs subi qu'un commencement de dissolution : elles restent très évidentes à l'examen microscopique, grâce à leur réfringence. Le contenu des cellules est demeuré fortement colorable en brun par l'iode.

CHAPITRE CINQUIEME

LES GLUCIDES DE THOREA RAMOSISSIMA

I. — LES CARACTÈRES GÉNÉRAUX DES *THOREA*

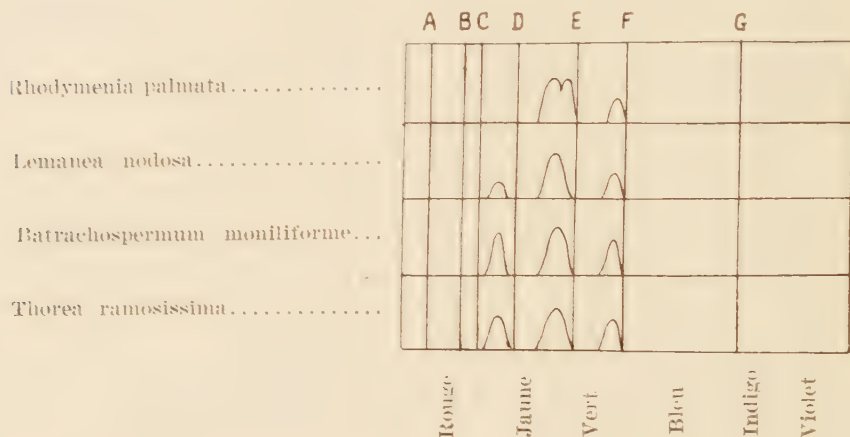
Ce genre comprend une seule espèce nettement définie : *Thorea ramosissima*, Bory. Signalée en d'assez nombreuses stations, elle ne s'y montre qu'irrégulièrement; c'est en vain que nous l'avons cherchée dans la Seine, aux places citées par les auteurs. Nous avons pu enfin trouver dans l'Adour une quantité de matériel suffisante pour une première analyse : 220 grammes d'algues fraîches. Nous devons cette récolte aux indications de M. le Professeur ALLORGE, à qui nous renouvelons nos sincères remerciements.

La plante est décrite par G. HAMEL dans « Les Floridées de France » (*Revue Algologique*, II, p. 307, 1925); on pourra aussi se reporter aux articles de SCHMITZ [52], et de MÖBIUS [53], et à la monographie de SCHMIDLE [54] (avec figures).

Nous donnons ci-contre une planche de dessins d'après nature. (Pl. 2). On y voit l'algue entière, dont le port est caractéristique, et bien rendu par le terme de « ramosissima ». Les échantillons, récoltés au début d'août, ne dépassaient guère 40 cm., taille modeste pour l'espèce, qui atteint 1 mètre. Fixés à la coque d'une péniche, ils ondu-laient au fil de l'eau. Leur couleur va de l'olivâtre au violacé; le pigment rouge, abondant, diffuse avec facilité quelques instants après la cueillette. On a pu en examiner le spectre d'absorption, et retrouver les résultats de SCHMIDLE, qui le décrivit le premier.

Il nous semble intéressant, à cette occasion, de rapprocher en un tableau les observations spectrales que nous avons faites sur le pigment rouge des Floridées d'eau douce. A vrai dire, celles-ci seraient mieux nommées Algues violettes : la solution aqueuse de leur pigment complémentaire est nettement violacée, différant de la liqueur rose

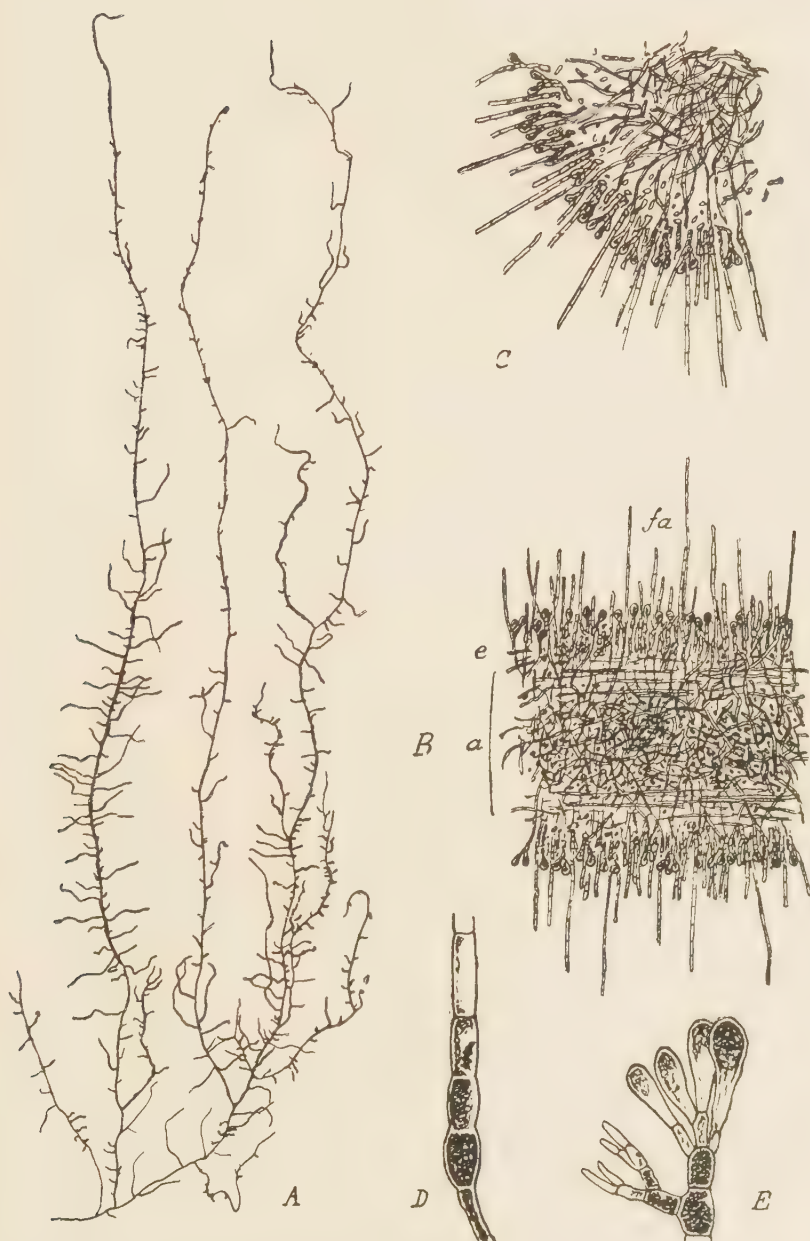
franc, obtenue à partir d'un *Rhodymenia* par exemple. Les spectres accusent cette différence.



Chez les *Rhodymenia*, la phycoérythrine est seule présente. Dans le cas des *Lemanea* et *Batrachospermum*, les travaux de KYLIN [55] permettent de rapporter à la phycocyanine la bande située entre les raies C et D. En raison de la similitude des spectres, la coexistence des pigments bleu et rouge paraît évidente aussi dans le cas des *Thorea*. La présence de phycocyanine n'est d'ailleurs pas en rapport direct avec l'habitat dulçaquicole : plusieurs Rhodophycées marines en contiennent.

À l'œil nu, et mieux à un faible grossissement, la surface des *Thorea* apparaît couverte d'une épaisse chevelure, constituée de poils longs et fins, très fragiles; leurs cellules fortement pigmentées ont un rôle surtout assimilateur. Quelques-uns sont figurés dans les coupes transversale et longitudinale d'un rameau, et la base d'un filament est représentée à part, plus grossie (Pl. 2, fig. B, C, D).

L'écorce de l'algue, qui donne naissance aux filaments assimilateurs, est aussi un tissu sporifère. On distingue sur les coupes de nombreuses sporés pyriformes (quelques-unes sont représentées à part) : il ne s'agit pas, croit-on, de carpospores; malgré les observations de SCHMIDLE, la sexualité est encore mal connue. L'axe du rameau est formé de filaments enchevêtrés en tous sens; vers la périphérie, sous l'écorce, un certain nombre de ces filaments ont une course longitudinale.



Thorea ramosissima Bory.

A. Algue entière (réduit de moitié). — B. Coupe longitudinale (Gr. 50 D.) — *fa.*, filaments assimilateurs. — *e.*, écorce (remarquer les spores pyriformes). — *a.*, axe. — C. Coupe transversale (fragment). — D. Base d'un filament assimilateur. — E. Extrémité d'un filament cortical porteur d'un groupe de spores à divers degrés de développement. Dans ces deux dernières figures, on a indiqué en noir le contenu cellulaire colorable par l'iode. (Gr. 500 D.).

Les auteurs signalent, et nous l'avons vérifié, que les membranes cellulaires se colorent en bleu sous l'action du chlorure de zinc iodé. Cette réaction manifeste vraisemblablement (1) en elles un fonds cellulosique. Ici, comme dans le cas de *Lemanea*, il faut user d'un réactif très concentré en chlorure de zinc, ou mieux tremper les coupes un instant dans l'acide sulfurique concentré, et les porter ensuite dans l'eau iodée. Cette difficulté pour obtenir le bleuissement est due, croyons-nous, à l'abondance de la matière gommeuse qui imprègne les membranes : dans le cas de *Thorea*, elle donne une grande consistance au faux tissu formé des filaments enchevêtrés.

Quant au contenu cellulaire, surtout celui des spores, il prend dans une goutte d'eau iodée une coloration brun violacé intense. La substance mise ainsi en évidence forme des amas granuleux, réfringents mal délimités : nous avons rapporté plus haut (cf. p. 8) l'opinion de MÖBIUS et de SCHMITZ, qui en ont fait une espèce d'amidon. Au premier examen, elle rappelle beaucoup le glycogène des *Lemanea*, et l'analyse chimique confirmera ce rapprochement.

II. — LES SUCRES SOLUBLES DANS L'ALCOOL

Sitôt la récolte, les algues égouttées ont été fixées dans l'alcool fort qui prend une teinte vert intense. On décante, on évapore l'alcool, on défèque par addition d'acétate basique de plomb, et non d'acide phosphotungstique, qui donne de mauvais résultats ; l'excès de réactif est éliminé au moyen de l'acide sulfurique. La solution obtenue, ramenée à 220 cm³, est dextrogyre :

$$\alpha = + 43'.$$

On en prélève 2 cm³ qui sont additionnés d'un peu de liqueur de FEHLING. A l'ébullition, il se produit un précipité floconneux blanc, qui ne rassemble que des traces infimes d'oxydule : il n'existe pas de sucre réducteur libre.

On n'en trouve pas non plus après un séjour prolongé de l'extrait en présence de sucrase, ce qui indique l'absence de saccharose.

(1) Le bleuissement sous l'action du chlorure de zinc iodé n'est pas, il s'en faut, une réaction spécifique de la cellulose : on l'obtient aussi bien à partir de cendres végétales, de CO²K², CO²(Am)², etc... (MOLISCH, cité d'après CZURDA [59]).

Un temps de chauffe plus considérable, même à 120°, ne modifie pas ces résultats.

L'hydrolysats est alors neutralisé exactement par le carbonate de baryum; on filtre; le pouvoir rotatoire spécifique, déterminé à nouveau, est égal à + 14.

La liqueur est desséchée sous le vide, et la substance sèche épuisée par l'alcool très fort. On distille l'extrait, on reprend par un peu d'eau. La solution obtenue, dépourvue de baryum, est additionnée d'acide acétique et de phénylhydrazine. La précipitation d'une hydrazone en forme d'oursins commence presque aussitôt. Le précipité recueilli est lavé au benzène, et redissous dans l'eau bouillante. De la solution, filtrée à chaud, l'hydrazone cristallise par refroidissement. La forme des sphéro-cristaux et le point de fusion ne permettent aucun doute sur leur nature : il s'agit de la mannosehydrazone.

La gomme de *Thorea* est donc un mannoside. C'est dire qu'elle diffère beaucoup des gommes rencontrées jusqu'ici chez les Algues. On pourrait peut-être la rapprocher des mucilages lévogyres, à base de mannose, qui donnent aux tissus de certaines Monocotylédones (bulbes de Lis...) une grande viscosité (1).

IV. — LE GLYCOGÈNE

Les traitements précédents ont laissé dans les algues une quantité importante de gomme, qu'il est très difficile d'extraire par l'eau chaude. La potasse diluée ne la dissout guère mieux, et solubilise en même temps une certaine quantité de substance colorable par l'iode. Renonçant donc à poursuivre l'épuisement sélectif de la gomme, on a cherché à extraire le plus possible de substance colorable.

Les algues, mélangées de sable, puis séchées, sont pulvérisées au mortier; la poudre est traitée, pendant 45 minutes, à l'ébullition, par 750 cm³ de potasse à 1 %. On décante, et le dépôt lui-même est centrifugé, afin d'éviter toute perte de liqueur.

Celle-ci précipite abondamment par addition d'acide chlorhydrique en léger excès. Après filtration du floculat, formé surtout de matières azotées, on peut constater que le milieu est lévogyre (— 16');

(1) Cf. J. PARKIN. — On a reserve carbohydrate, which produces mannose, from the bulb of *Lilium*. — *Proceed. of Cambridge Philos. Soc.* 11, 2, 1901, p. 139

il se colore en violet intense en présence d'iode. Nous allons montrer qu'il s'agit d'un mélange de glycogène et de gomme, celle-ci étant assez abondante pour imposer son signe optique.

On concentre la liqueur (en milieu neutre), à 40 cm³, et l'on ajoute un volume d'alcool absolu. Le précipité, lavé et séché, pèse environ 0 gr. 5. On le dissout dans l'eau chaude, et la solution est additionnée d'un peu de poudre de pancréas. La réaction de coloration en présence d'iode est abolie en quelques instants et définitivement. Après abandon de quelques heures à 50°, on précipite par affusion d'alcool les substances inattaquées. On filtre; la liqueur est distillée, puis déféquée par l'acide phosphotungstique. Elle est nettement dextrogyre (+ 55') et réductrice.

L'hydrolyse est ensuite continuée sous l'action de l'acide sulfurique, avec les résultats suivants :

Temps	Déviation	Réducteur % (en glucose)	[α] _D
0	+ 55'		
1 h.	34'		
2 h.	20'	0,32	53

Nous avions trop peu de liqueur (12 cm³) pour préparer une osazone. On ne pouvait douter cependant que le produit de l'hydrolyse fût du glucose. Ici, comme dans le cas de *Lemanea*, l'amylase a bien agi sur un corps « glycogénique ».

CONCLUSIONS

On peut affirmer la présence dans les *Thorea* :

- 1° d'une gomme lévogyre, très visqueuse, à base de mannose;
- 2° de glycogène.

Au sujet des sucres à petite molécule, notons l'absence de réducteur libre et de saccharose. Quant à la nature du produit dextrogyre, il faut être réservé, bien que la présence du floridoside soit très vraisemblable.

CHAPITRE SIXIEME

ETUDE SOMMAIRE DU BANGIA ATROPURPUREA

I. — CARACTÈRES GÉNÉRAUX

Cette algue est assez fréquente, fixée aux roches, dans les eaux calcaires; on la trouve surtout sur les pierres des cascades peu abondantes (fontaines publiques par exemple), ou tapissant des parois ruisselantes. Ce dernier gîte est le plus propice aux récoltes : on a chance d'y trouver l'algue pure, formant parfois un rideau continu, rouge foncé, qu'on arrache facilement. Les stations assez riches pour satisfaire le chimiste restent cependant l'exception : tels furent pour nous les suintements d'eau douce dans les falaises calcaires littorales de Port-en-Bessin.

La plante ne se distingue pas morphologiquement de *Bangia fuscopurpurea*, l'espèce marine que les cytologues ont étudiée plus volontiers; on l'en sépare en raison de l'absence des *Bangia* dans les eaux saumâtres. Les filaments jeunes sont formés de cellules en une seule file, à membranes très épaisses, imperforées. Ces membranes fixent la safranine et le rouge de ruthénium; elles restent incolores dans le chlorure de zinc iodé, ou par traitement à l'acide sulfurique et à l'iode; elles demeurent intactes dans la liqueur de SCHWEITZER. Les cellules voisines de la base, dans chaque filament, émettent un prolongement qui, sur une certaine longueur, court dans l'épaisseur des membranes : bientôt il devient libre et forme rhizoïde. Dans les filaments plus âgés, les cellules se divisent par des cloisons radiales assez nombreuses, plus ou moins régulières (Pl. 3, fig. D, E). La reproduction s'effectue par spores directes ou gonidies, qui naissent par quatre, aux dépens d'une cellule mère (fig. C) (1).

L'histologie de *Bangia fuscopurpurea* a fait l'objet d'une étude

(1) On trouvera une description détaillée des *Bangia* dans « Les Floridées de France », par G. HAMEL (Revue Algologique, I, 1924).

ancienne de BERTHOLD [56], reprise récemment par P. DANGEARD [57]. Pour BERTHOLD, les spores neutres accumulent un produit soluble dans l'eau et colorable en brun par l'iode; de plus, les carpospores contiennent de petits grains d'amidon colorables en bleu par le même réactif (matériel conservé dans l'alcool). P. DANGEARD observe aussi deux sortes d'amidon; le premier est l'« amidon floridéen », colorable en brun : « L'abondance de cet amidon est telle que les filaments de *Bangia*, qui sont à la veille de produire des spores neutres ou des carpospores, prennent sous l'action de l'eau iodée une teinte brun rougeâtre très accentuée qui se voit à l'œil nu » (loc. cit. p. 196). La seconde sorte est de l'amidon ordinaire, noircissant par l'iode : « ... cet amidon forme seulement de très petits grains autour du pyrénioïde ou sur le chromatophore; il est très peu abondant et ne s'accumule pas en vue de constituer une réserve dans les spores. Bien au contraire, les spores neutres n'en contiennent habituellement pas, et les carpospores, quand elles en possèdent, n'en ont pas plus que les cellules ordinaires du thalle, par exemple les cellules basales des filaments » (p. 197).

Nous avons pu constater que les filaments de *Bangia atropurpurea*, comme ceux de l'espèce marine, prennent une teinte brune dans l'eau iodée, brun très foncé quand il s'agit de thalles sporulés, ou de régions pourvues de rhizoïdes. Au microscope, le contenu cellulaire présente un fond uniformément teinté par l'iode en jaune cuivré plus ou moins foncé, sur lequel se détachent souvent quelques petits grains plus rouges, ou bien des amas ou tractus irréguliers, noirâtres, abondants surtout dans les cellules à rhizoïdes. La substance colorable en brun ne forme pas ici des masses confusément granuleuses, comme dans *Thorea* et *Lemanea*, mais semble imprégner uniformément le contenu cellulaire, comme en solution dans le cytoplasme. La coloration, brune est d'ailleurs peu solide; elle s'atténue notablement par simple lavage. D'après les données chimiques, il apparaîtra que le corps en question n'est pas de nature amylacée, amidon floridéen ou glycogène, mais bien une substance analogue aux gommés.

Quant aux tractus ou granulations qui se colorent en noirâtre, nous n'avons pu établir leur nature chimique : l'extraction en est pour ainsi dire impossible, à partir d'un poids minime d'algues.

II. — L'EXTRAIT ALCOOLIQUE

110 grammes d'algues fraîches, récoltées fin septembre, furent fixés dans l'alcool bouillant. Le pigment rouge était abondant, mais la chlorophylle, en petite quantité, ne colorait l'extrait qu'en vert pâle (1).

Après évaporation de l'alcool, le résidu aqueux est additionné d'acétate basique de plomb. On filtre le flocculat, et l'excès de plomb est éliminé par une goutte d'acide sulfurique. Le volume de la liqueur, L, est 42 cm³; elle est dextrogyre :

$$\alpha = + 1^{\circ}14'.$$

et, si l'on rapporte la déviation au volume de 110 cm³

$$\alpha' = + 28'.$$

On prélève 1 cm³ de l'extrait L, qu'on additionne d'un peu de liqueur de Fehling. Il se produit à l'ébullition un précipité floconneux blanc, qui ne ressemble pour ainsi dire pas d'oxydure.

Après plusieurs heures de contact avec la sucrase, il n'est pas apparu de réducteur.

On a ensuite pratiqué l'hydrolyse par l'acide chlorhydrique à 5 % en poids. Voici les résultats :

Temps	Déviation	Réducteur % (en galactose)	$[\alpha]_D$
0	+ 1° 6'	0	
30 m.	26'	0,22	
1 h.	26'	0,22	93
1 h. 30 m.	26'		

Enfin 20 cm³ de la liqueur primitive L ont été neutralisés exactement, additionnés de 2 cm³ d'autolysat de levure basse, et abandonnés à 37°. Il se produit une hydrolyse :

(1) Une certaine quantité d'algues ont été traitées par l'alcool à froid. La liqueur présente, au spectroscope, la même bande d'absorption dans le rouge qu'une solution de chlorophylle de graminée.

Temps (en jours)	Déviatiou	Réducteur % (en galactose)	$[\alpha]_D$
0	+ 1° 6'		
1	48'		
2	40'		
6	32'		
13	24'		
20	24'	0,24	83

L'ensemble de ces résultats rappelle de très près ce que nous avons observé en étudiant les espèces précédentes : absence de sucre réducteur libre et de saccharose, présence d'un corps dextrogyre hydrolysable par les acides et par l'extrait de levure basse. S'agit-il du floridoside ? Nous ne saurions évidemment l'affirmer, avant que des récoltes abondantes n'en aient permis la préparation.

III. — LES EXTRAITS AQUEUX

Les algues, essorées après la fixation, sont épuisées à trois reprises par 700 cm³ d'alcool à 75-80°, ce qui les débarrasse des produits dextrogyres solubles (1).

On les laisse alors macérer dans 700 cm³ d'eau pendant 30 minutes, à 100°, et l'opération est répétée une fois. La liqueur est décantée et filtrée; après concentration, elle devient visqueuse, et faiblement colorable par l'iode en brun violacé. Quand le volume est réduit à 40 cm³, on ajoute 2 % d'acide sulfurique, et on porte au bain-marie bouillant. Après 5 minutes, on peut filtrer et examiner au polarimètre. Voici la marche de l'hydrolyse :

(1) Le second extrait, après distillation et défécation, est examiné au polarimètre :

Pour le 3^e extrait, on note :

$\alpha_2 = + 15'$ volume 20cm³

$\alpha_3 = + 3'$ volume 18cm³

Temps	Déviatiôn	Réducteur %	$[\alpha]_D$
5 m.	— 22'		
10 m.	— 20'		
45 m.	0	0	
1 h. 15 m.	0	0,37	
2 h.	+ 10'	0,45	
2 h. 30 m.	+ 10'	0,50	de l'ordre de 16.
3 h.	+ 10'	0,47	

Les algues sont ensuite desséchées, puis coupées aux ciseaux en fragments très menus. On les fraite sous cet état par une solution de potasse (à 8 % environ), au bain-marie bouillant pendant près de deux heures. On décante la liqueur brune, et on l'acidule par HCl : il se produit un précipité floconneux grisâtre, consistant surtout en matières azotées, qu'on élimine en filtrant. L'extrait neutralisé est ensuite amené au volume de 40 cm³ : il est alors très visqueux. On ajoute de l'alcool jusqu'à précipitation complète. Le floculat, gris jaunâtre, est séparé et lavé à l'alcool. Séché, il pèse 2 gr. 3; redissous dans l'eau, il donne une liqueur visqueuse, colorable en brun rouge par l'iode.

La poudre de pancréas est sans action sur cette liqueur.

Après l'addition du ferment, le brunissement en présence d'iode persiste, même au bout d'un temps très long. Sans doute, la réaction est atténuée, mais il suffit d'un changement d'état physique du milieu pour qu'elle se manifeste avec son intensité première : si par exemple on dessèche quelques gouttes du liquide, puis qu'on humecte avec très peu d'eau iodée, la substance brunit fortement. Nous avons observé des faits analogues en étudiant certaines géloses (cf. page 56).

Si d'ailleurs, après un long séjour à l'étuve, on sépare, par précipitation au moyen de l'alcool, les substances gommeuses inattaquées, la liqueur restante est optiquement inactive et sans pouvoir réducteur ; elle n'est pas modifiée par l'action des acides : on ne peut déceler aucune saccharification. Quant à la gomme précipitée, elle se colore, sous cet état, en brun intense par l'iode ; la teinte disparaît quand on dissout la substance dans un peu d'eau ; cette solution, après concentration ou dessiccation, est à nouveau colorable. C'est là ce qu'on observe quand la coloration produite par le métalloïde dépend bien plus de l'état de condensation des micelles, que de la nature chimique du corps considéré.

En vue de préciser les caractères de cette gomme, on a dissous

dans 15 cm³ d'eau le flocculat souillé d'un peu de diastase. La solution ne peut être étudiée telle quelle, mais un traitement de 5 minutes par l'acide sulfurique à 2 % permet de filtrer et d'examiner au polarimètre. L'hydrolyse est ensuite poussée à son terme et donne les résultats suivants :

Temps	Déviati (sous 1 dem. d'épaisseur)	Réducteur % (en glucose)	$[\alpha]_D$
5 m.	— 38'		
45 m.	— 12'		
2 h. 30 m.	+ 10' à 12'	1,15	15 à 17

Si l'on admet que la concentration du réducteur, en fin d'expérience, représente celle de la gomme initiale, on trouve pour cette dernière un pouvoir rotatoire dépassant — 55 (en valeur absolue). Ce chiffre se rapporte à un mélange du produit colorable par l'iode avec les substances constitutives des membranes, incolores en général dans ce réactif, mais partiellement dissoutes dans la potasse.

Ainsi nous n'avons pu trouver, dans les *Bangia*, de substance glycogénique. Il serait téméraire d'affirmer qu'elles en sont dépourvues, étant donné la faible quantité de matériel traité. Cependant il est certain que la coloration brune si frappante, prise par ces algues imbibées d'iode, provient d'un constituant lévogyre analogue aux gommes, sans rapport avec l'amidon floridéen.

Certaines anomalies histochimiques signalées dans les *Bangia* pourraient peut-être trouver ici leur explication, en particulier le fait signalé par P. DANGEARD [58, p. 218] que l'« amidon » de ces algues n'est dissous ni par le formol, ni par le réactif de REGAUD, considérés par MANGENOT [59, p. 206] comme des solvants de l'amidon floridéen.

Quoi qu'il en soit, ces résultats montrent quelle prudence est de rigueur quand il s'agit d'interpréter les effets de l'iode sur le contenu cellulaire.

CHAPITRE SEPTIÈME

ETUDE SOMMAIRE DE BATRACHOSPERMUM MONILIFORME

I. — CARACTERES HISTOCHIMIQUES

La morphologie, le développement, l'histoire nucléaire ont été étudiés dans les Batrachospermes, mais on sait encore fort peu de chose des substances qu'ils élaborent. Ces dernières années pourtant, HAAS et HILL [60] ont abordé l'étude chimique du *Batrachospermum moniliforme*, Roth., en y recherchant les polyols; le résultat fut d'ailleurs négatif. Cette recherche exceptée, on ne possède sur ces algues que des données histologiques.

La cellulose existe dans les membranes, mais seulement lorsqu'elles ont atteint un certain développement, comme l'ont montré en particulier VON SOLMS LAUBACH [61] et SIRODOT [62]. Si l'on plonge un fragment d'algue fructifiée dans le chlorure de zinc iodé, seul l'axe bleuit, les autres parties prennent une teinte vert pâle ou restent incolores. Il faut employer un réactif très concentré, et essuyer l'algue avant l'essai (par exemple en la promenant sur un fragment de porcelaine) : les Batrachospermes en effet retiennent beaucoup d'eau, à cause de la substance mucilagineuse, du « gélin » caractéristique qui les enrobe (1).

Plusieurs auteurs ont étudié les inclusions cytoplasmiques, en s'adressant le plus souvent au *B. moniliforme*. Lorsqu'on plonge l'algue fructifiée dans la liqueur iodo-iodurée, le brunissement des gonimoblastes est très frappant. Les cellules végétatives prennent aussi une teinte brune, mais beaucoup plus pâle : ces caractères ont été dé-

(1) Le *Chantransia* ne présente pas de gélin. Ses membranes bleuissent dans le chloriodure de zinc, la teinte devenant seulement plus pâle dans les parties jeunes (SIRODOT). Nous n'avons étudié ici que la phase Batrachosperme.

crits par VON SOLMS LAUBACH. D'après cet auteur, les vacuoles sont très petites dans les cellules jeunes; plus tard elles grandissent et leur contenu tient en suspension de nombreux granules, colorés faiblement en brun par l'iode. Pour SCHMITZ (cité d'après CZURDA [63]), les cellules âgées, dans la même espèce, contiennent des grains amylacés groupés surtout autour du noyau. Selon SCHMIDLE [64], le contenu des spores est analogue à celui des monospores de *Thorea ramossissima*.

SIRODOT [65 p. 167 et suivantes] décrit des globules réfringents, inclus d'abord dans le protoplasme, « plus nombreux autour du noyau, qu'ils rendent plus apparent », et dont quelques-uns tombent dans les vacuoles. L'auteur distingue :

1° les globules, petits, sphériques, transparents, très peu nombreux dans chaque cellule (2 à 6), rencontrés dans *B. moniliforme* Roth et *B. testale* Sirdt. Cette description fait songer à des gouttelettes lipidiques.

2° les corpuscules, affectant des formes diverses, et susceptibles d'acquérir des dimensions relativement grandes, translucides, souvent nombreux; l'iode les colore en jaune rougeâtre; ils sont insolubles dans l'alcool et l'éther, mais dissous par la potasse. On ne trouve ces corpuscules que dans quelques espèces; ils sont abondants dans certaines variétés de *B. vagum*, Ag. L'auteur les désigne sous le nom de « leucites » et leur attribue la composition générale du protoplasma.

SIRODOT n'a pas insisté sur le brunissement du *B. moniliforme* dans l'eau iodée. D'abord insensible, ce caractère s'accroît à mesure qu'avance la saison. Nous avons observé en décembre des échantillons sexués, porteurs de gonimoblastes à leur début, mais l'iode les teintait à peine; en avril le brunissement est net; à la fin mai, les algues deviennent dans l'eau iodée d'un brun presque noir.

En ce qui concerne le *B. vagum*, nous n'avons pas eu l'occasion d'observer les variétés *keratophyllum* et *flagelliforme*, où SIRODOT signale des « corpuscules » abondants. Nous avons seulement trouvé des variétés stériles, portant de nombreuses sporules. Celles-ci brunissent nettement dans l'eau iodée, ainsi que les cellules voisines.

II. — RÉCOLTE ET CONDITIONS DE L'ÉTUDE CHIMIQUE

Nous avons récolté le *B. moniliforme*, en quantités importantes, dans un ruisseau de la forêt de Rambouillet. Les eaux, issues des sables ferrugineux, drainent des prés à Sphaignes, évoluant vers la tourbière. L'algue s'y rencontre sur les pierres seulement, et à l'état presque pur ; elle est abondante depuis mars jusqu'à fin mai ; plus tard elle décline et les Diatomées pullulent. On sait que les *Batrachospermes* présentent un cycle de développement analogue à celui des *Lemanea* ; comme eux, ils prospèrent en hiver et au printemps. Mais ils n'ont pas les mêmes exigences quant à la qualité des eaux : on les rencontre fréquemment en pays calcaire : P. FRÉMY [66] a même décrit des échantillons de *B. moniliforme* fortement incrustés de carbonate de chaux.

Quelques heures après la récolte, qui consiste simplement à râcler les pierres, les algues étaient rapidement lavées et triées, puis essuyées autant que possible sur des linges. Leur poids, sous cet état, est ce que nous appelons le « poids frais ».

Les *Batrachospermes* méritent une étude chimique complète, parallèle à celle des autres genres. Toutefois le présent travail n'en est encore qu'une ébauche, en raison de difficultés particulières. Le matériel présente une teneur très faible en substance sèche, encore plus faible en glucides ; la séparation de ces derniers est très pénible, en raison de la solubilité du gelin dans l'alcool.

III. — QUELQUES DONNÉES SUR LA COMPOSITION MINÉRALE

Teneur en eau. — On fait sécher sur des assiettes, à la température ordinaire, 180 grammes d'algues fraîches. Après dix jours, le poids est réduit à 6 grammes, soit une perte de 96,6 %.

71 grammes d'algues fraîches, récoltées en avril, ont été desséchés à l'étuve. A 110°, le poids de la substance se stabilise à 1 gr. 76. La teneur en eau était donc de 97,5 % environ. Des algues récoltées au milieu de mai ont donné le même résultat. (Cf. teneur en eau des *Lemanea* : 88 % environ).

Teneur en cendres. — On porte au rouge sombre 2 gr. 311 d'algues préalablement séchées à 110°. Les cendres sont de couleur ocracée. Leur poids se stabilise à 0 gr. 388, soit 16,8 % du poids de la substance sèche (*Lemanea* : 12 % environ).

Alcalinité des cendres. — On fait deux parts de ces cendres :

1° La moitié (soit 0 gr. 194) est traitée par 300 cm³ d'eau bouillante. Après filtration et concentration, on neutralise, en présence de méthylorange, par l'acide sulfurique N/10. Le virage est obtenu en versant 1 cm³ 9 de liqueur titrée.

2° L'autre moitié est traitée par 30 cm³ d'acide sulfurique N/10 ; on laisse en contact plusieurs heures, puis on filtre et on neutralise par la soude décinormale, en présence de méthylorange. Le volume de soude est 22 cm³ 4. L'alcalinité totale des cendres correspond à 30 — 22,4 = 7,6 cm³ d'acide, et l'alcalinité insoluble à 7,6 — 1,9 = 5,7 cm³ d'acide.

Le rapport de l'alcalinité insoluble à l'alcalinité soluble est égal à 3 (*Lemanea* : 3,2).

Après le traitement des cendres par l'acide sulfurique, il reste un abondant résidu rouge, qui pèse 0 gr. 126, soit 60 % environ du poids des cendres.

Composition des cendres. — Une étude sommaire donne les résultats suivants :

Dans la partie soluble dans l'eau, on trouve surtout des sulfates et du potassium, un peu de chlorures, très peu de calcium et de magnésium, pas de phosphates.

La partie insoluble dans l'eau contient des phosphates, du magnésium, mais très peu de calcium. Le fer est très abondant, mais il provient surtout de l'hydrate retenu mécaniquement par les algues.

IV. — EXTRAIT ALCOOLIQUE

Selon la technique habituelle, les algues sont traitées par l'alcool bouillant. Elles deviennent rougeâtres, tandis que la chlorophylle, abondante, passe en solution. Le gélin aussi se dissout en partie, et rend l'extrait visqueux : même en fixant les algues dans trois fois leur poids d'alcool absolu, on ne peut qu'atténuer cet inconvénient.

Après décantation, on chasse l'alcool sous pression réduite. La liqueur obtenue est d'aspect laiteux, vert grisâtre, neutre, d'une grande viscosité. Elle ne floccule pas en milieu barytique, ni au moyen de l'acide phosphotungstique. L'acétate basique de plomb provoque une prise en masse. C'est dire que la défécation est difficile; nous avons en premier lieu adopté le plomb, qu'on ajoute peu à peu au milieu dilué, en agitant très vigoureusement.

Après filtration, l'excès de réactif est éliminé par l'acide sulfurique. La liqueur, légèrement verdâtre, est concentrée à basse température. Si on l'additionne alors de liqueur de FEHLING, on obtient, même à froid, un flocculat notable, mais aucune réduction ne se produit. Examinée au polarimètre, elle se montre nettement dextrogyre :

Date de la récolte	Poids d'algues fraîches	Volume de l'extrait	α
5 avril	460 gr.	23 cm ³	+ 26'
13 mai	626	31	+ 1°32'
26 mai	232	12	+ 1°42'

Même rapportées au poids sec, ces déviations sont très faibles, relativement à celles qu'on observe dans l'étude des *Lemanea*.

Ajoutons à ces liqueurs concentrées un peu d'acide phosphotungstique : on obtient une nouvelle et très abondante défécation, et la déviation diminue très notablement. On lit par exemple :

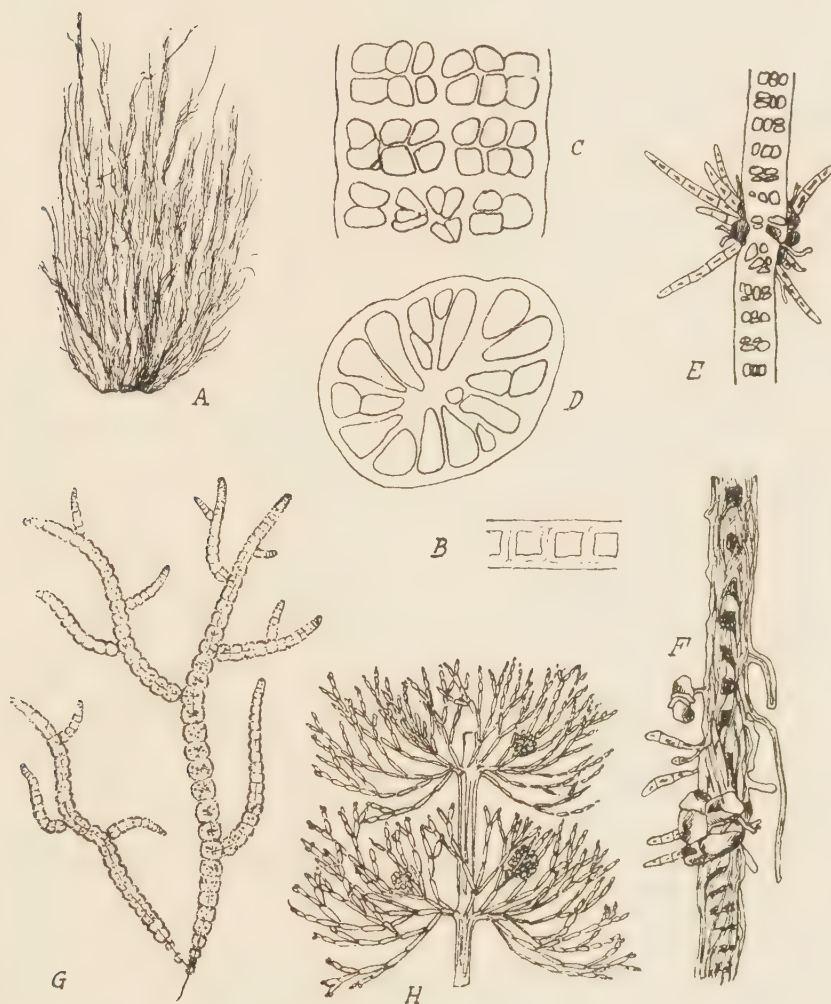
Avant défécation au tungstène	+ 34'
Après — — —	+ 18'

(liqueur ramenée au vol initial).

Il semble donc très probable que les déviations, dont nous donnons plus haut la liste, sont à rapporter, en partie, à des substances gommeuses échappant à la défécation plombique.

La sucrase n'a aucune action sur ces liqueurs : elles ne contiennent donc pas de saccharose.

L'hydrolyse au moyen des acides (SO^+H^2 2 %) est pénible : nous avons dû employer l'autoclave pour l'achever. Voici le compte-rendu d'une expérience (algues de mai) :

***Bangia atropurpurea* Lb.**

A. Algue entière (grandeur naturelle). — B. Filament jeune (Gr. 500 D.). C. Filament adulte au moment de la sporulation, et D coupe transversale (Gr. 500 D.). — E. Filament dont une région s'est trouvée en contact avec la paroi calcaire: production de rhizoïdes et d'un bouquet de jeunes rameaux (marcottage). — F. Le même vers la base: nombreux rhizoïdes s'attachent aux fragments de pierre; quelques uns donnent de jeunes rameaux. (Gr. 400 D environ).

***Batrachospermum moniliforme* Roth.**

G. Fragment de l'algue (Gr. 2). — H. Deux verticilles à l'état jeune, avec gonimoblastes (Gr. 40).

	Temps	Déviatiou	Réducteur (en glucose)	$[\alpha]_D$
	0	+ 1°40'	0	
B.-M. bouillant	30 m.	1°26'		
	1 h. 30 m.	1°10'		
autoclave 120°	45 m.	56'		
	1 h. 30 m.	44'		
	2 h.	44'	0,41	89
	2 h. 30 m.	»	0,41	

Nous retrouvons dans cette hydrolyse les caractères qui nous sont familiers. Cependant l'interprétation analytique reste très incertaine. En effet, l'action de l'autolysat de levure basse n'a pu encore être étudiée : le milieu, trop complexe, précipite le ferment. Nous disposons, d'autre part, de trop peu d'extrait, pour en entreprendre la purification.

V. — CARACTÈRES DU GELIN

Les algues récoltées le 4 avril (voir au précédent paragraphe), séparées de l'alcool de fixation, ont été séchées et broyées au mortier : on obtient ainsi une poudre brun rouge pesant 13 gr.

Cette poudre est traitée à deux reprises par 100 cm³ d'alcool à 90 bouillant. Les extraits ne sont pas visqueux, et le second à peine verdâtre; après évaporation de l'alcool et de défécation au plomb, ils fournissent une liqueur très peu dextrogyre (+ 10' sous le volume de 10 cm³), et très pauvre en résidu sec.

La poudre d'algues est alors épuisée non par l'eau, qui solubilise la masse du pigment rouge, mais par l'alcool à 60°. Le gélín s'y dissout facilement à chaud; après quelques jours de repos, on peut décantier l'extrait alcoolique à peine jaunâtre. On chasse l'alcool; la solution aqueuse de gomme est très visqueuse; elle ne donne pas de réaction avec l'eau iodée, la liqueur de Fehling, la baryte, la soude, l'acétate neutre de plomb; elle précipite par l'acide phosphotungstique, et, d'une manière massive, par l'extrait de Saturne.

Une hydrolyse de cinq minutes, à 100°, par l'acide sulfurique à 2 %, fait disparaître complètement la viscosité; on peut filtrer pour examiner au polarimètre : la liqueur est *dextrogyre*. Dans les condi-

tions indiquées, l'hydrolyse est très longue; en employant l'acide à 1 %, il suffit de porter une demi-heure environ à 120° pour atteindre le terme. L'hydrolysats est dextrogyre; neutralisé par le CO^3Ba , il présente les caractères suivants :

Déviation	Réducteur % en glucose	$[\alpha]_D$
1°12'	0,745	80

Si l'on traite la poudre d'algues totale par SO^4H^2 à 2 % à 100°, la liqueur, après une demi-heure d'hydrolyse est dextrogyre; ensuite la déviation diminue et l'hydrolysats devient lévogyre.

VI. — MISE EN ÉVIDENCE DU GLYCOGENE

On sait que les algues récoltées à la fin mai deviennent d'un brun rouge intense dans l'eau iodée : nous avons pu en extraire facilement le principe colorable, qui n'est autre que du glycogène. Après l'épuisement par l'alcool, on prélève une vingtaine de grammes d'algues essorées; on les traite par un grand volume d'eau bouillante, pour dissoudre le plus possible de mucilage, puis on y incorpore du sable, on dessèche et l'on broie au mortier. La poudre obtenue est traitée par la potasse à 4 % bouillante pendant 15 minutes environ.

On purifie cet extrait comme il a été dit aux chapitres précédents, puis on le concentre à 15 cm³ environ : il est assez peu visqueux, et se colore en brun rouge intense par une trace d'iode. On précipite la substance en ajoutant un volume d'alcool à 95. Le flocculat, par son aspect pulverulent, ne semble pas très riche en mucilages. Après lavage, on le redissout dans 25 cm³ d'eau. Cette solution est peu visqueuse, non réductrice, dextrogyre (+ 2°). Traitée par la poudre de pancréas, elle perd très rapidement la propriété de se colorer en brun rouge sous l'action de l'eau iodée, et cette perte est définitive. On laisse agir le ferment pendant quelques heures à 50°, puis on filtre et l'on examine au polarimètre. La déviation, primitivement égale à + 2° n'est plus que de 1°28', et la liqueur est devenue nettement réductrice.

Celle-ci est alors déféquée par le plomb, et l'on achève l'hydrolyse au moyen de l'acide sulfurique à 2 %, à 100°. La déviation diminue de moitié; le pouvoir rotatoire $[\alpha]_D$ garde finalement une valeur assez

élevée [$+68$], en raison de la présence d'une petite quantité de gomme dextrogyre, incomplètement précipitée par le plomb.

Cet essai analytique, bien que rapide, permet de conclure, en toute certitude, à l'abondance du glycogène dans le *Batrachospermum moniliforme*, récolté au mois de mai.

VII. — AUTOLYSE

250 grammes d'algues fraîches, récoltées fin avril, ont été abandonnées dans le même poids d'eau distillée, sous toluol, pendant un an et demi.

L'autolysat est nettement réducteur. 180 cm³ ont été concentrés au dixième et déféqués par l'acide phosphotungstique. Amenée à 25 cm³ la liqueur présente alors les caractères suivants :

Déviatiou	Réducteur % en glucose	[α]D
$+14'$	0,35	33

La teneur de l'autolysat en réducteur (exprimé en glucose) est donc de 0,048 % (3,57 % pour les *Lemanea*).

La quantité de réducteur formé, pour 100 d'algues sèches, est de 2 gr. environ (elle était de 16 gr. dans les cas des *Lemanea*).

On a soumis à l'hydrolyse cette liqueur réductrice (SO⁴H² 2 %, 100°). Voici le résultat obtenu :

Temps	Déviatiou	Réducteur % (en galactose)	[α]D
0	$+14'$	0,35	33
30 m.	$+30'$	0,50	50
1 h.	$+28'$	0,50	»

Le pouvoir réducteur augmente donc notablement (près de 50 % de sa valeur primitive), ainsi que [α]D.

La perte de la viscosité des algues et leur dissociation montre que le gélin a fourni une partie des produits d'autolyse. Bien que paraissant atténué, le brunissement de nombreuses cellules dans l'eau iodée est encore observable.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Cinq espèces de Rhodophycées d'eau douce, appartenant aux genres *Lemanea*, *Sacheria*, *Thorca*, *Batrachospermum*, *Bangia*, ont été analysées dans le présent travail. On a recherché, par les procédés de la chimie, la nature des glucidés élaborés. Les résultats essentiels sont les suivants :

1. Aucune de ces plantes ne renferme de sucre réducteur libre, ni de saccharose, en quantité dosable; elles sont en cela conformes à l'ensemble des Algues non vertes.

2. Les extraits alcooliques de *Lemanea* et de *Sacheria* sont très dextrogyres. D'une grande richesse en sels (KCl surtout), ils sont difficiles à purifier. Cependant on a pu obtenir, à l'état cristallisé, les sucres qu'ils renferment. Ce sont le *floridoside* et le *tréhalose* (en tout, environ 1 gr. pour 100 de *Lemanea* frais).

Le floridoside est un α -galactoside du glycérol, découvert dans les Rhodophycées marines, dont il est le constituant glucidique original. Sa présence dans les *Lemanea*, d'écologie si différente, montre que le chimisme des Algues dépend surtout des affinités systématiques.

Le tréhalose, trouvé en petite quantité à côté du floridoside, était jusqu'à ce jour inconnu chez les Algues, et exceptionnel dans le monde des plantes autotrophes. Ce sucre n'est pas accompagné de mannitol, au moins en quantité décelable, contrairement à ce qu'on observe dans beaucoup de Champignons.

3. Dans les autres espèces, les principes glucidiques solubles dans l'alcool rappellent ceux des Lémanéacées par bien des caractères, en particulier le pouvoir rotatoire droit, élevé, et l'hydrolyse sous l'action de la galactosidase α . La quantité restreinte de matériel ne nous a pas permis de préparer les sucres à l'état de pureté.

4. Les Lémanéacées abandonnent à l'eau chaude un mélange de matières mucilagineuses, qui proviennent surtout de la membrane des spores, gélifiée en surface. Ce mélange est *dextrogyre*; sous l'ac-

tion hydrolysante des acides, il donne naissance à plusieurs corps réducteurs, le pouvoir rotatoire global étant voisin de $+14$.

Après épuisement à l'eau chaude, les Algues traitées par la potasse diluée fournissent une solution de gommes *lévogyre*, fluide à chaud, se gélifiant par refroidissement. Ces gommes imprègnent toutes les membranes du thalle. Leur hydrolyse conduit à un mélange de sucres, pour lequel $[\alpha]_D$ est voisin de $+10$. Parmi ces sucres figurent le *galactose* et l'*arabinose*.

5. Le faux tissu de *Thorea* doit sa cohérence à une gomme épaisse qui cimente les filaments. Celle-ci se dissout dans l'eau chaude en formant une liqueur très visqueuse, *lévogyre* ($[\alpha]_D$ voisin de -120°). Par hydrolyse, elle donne naissance à du *mannose* (sans doute exclusivement).

6. Le gélin des *Batrachospermes* se distingue des autres mucilages que nous avons décrits par sa solubilité dans l'alcool. Il est dextrogyre, et l'hydrolysât possède un pouvoir rotatoire droit élevé.

7. Dans toutes les Algues que nous étudions, les histologistes ont signalé, à l'intérieur des cellules, des substances figurées colorables en brun ou en violacé par l'eau iodée. Se fondant sur cette seule réaction, on a parfois conclu, imprudemment, à la présence de glycogène ou d'amidon floridéen. Pour déterminer de quelles substances il s'agit, l'analyse macrochimique apparaît aujourd'hui indispensable.

Ce qu'on doit attendre, avant tout, de la chimie, c'est de rendre impossible la confusion entre les matières amylacées et les gommes colorables par l'iode. Or la seule analyse que l'on possédait jusqu'à ce jour, celle des *Lemanea*, due à ERREBA, ne répond aucunement à cette exigence; elle est donc sans valeur.

Un étude chimique complète de l'amidon floridéen exigerait que le produit fût d'abord préparé à l'état pur. Cette condition n'a pu être remplie, en raison de la quantité restreinte du matériel et de sa richesse en gommes. On a seulement cherché à reconnaître, sur des extraits encore impurs, les propriétés caractéristiques des matières amylacées. Cette première étude permet déjà des conclusions certaines. Un des meilleurs procédés consiste à soumettre les extraits à l'action d'un ferment bien choisi, l'amylase pancréatique.

8. Les *Lémanéacées* contiennent, surtout dans les spores, une substance très analogue au *glycogène*. Colorable en brun violacé par

l'iode, soluble dans l'eau, surtout en milieu alcalin, précipitable par l'alcool, elle est fortement dextrogyre ($[\alpha]_D > 160^\circ$), et donne naissance, par hydrolyse, à du *glucose*, obtenu à l'état cristallisé. Le meilleur procédé d'extraction de ce glycogène consiste à partir des spores pures, que l'on broie avec du sable à l'état sec, pour les traiter ensuite par une solution de potasse concentrée.

On sait que le glycogène et le tréhalose coexistent chez les Champignons. La même association de glucides, dans les groupes de plantes si différents, mérite d'être retenue.

L'abondance du glycogène chez les *Lemanea* n'est pas sans rapport avec leur teneur relativement faible en sucres solubles; les *Rhododymenia*, qui n'élaborent pas de réserves amylacées en quantité dosable, sont beaucoup plus riches en floridoside.

9. Dans les *Thorea ramosissima* et *Batrachospermum moniliforme*, la présence du glycogène est également certaine, bien qu'on n'ait pu en hydrolyser une quantité suffisante pour préparer le glucose pur.

10. Les *Bangia* renferment une substance colorable en brun par l'iode, mais nullement tributaire de l'amylase. Lévoygyre, possédant les propriétés des gommages, cette substance n'a pas de rapport chimique avec l'amidon floridéen.

Il demeure possible que ces algues contiennent de petites quantités de matière amylacée, d'extraction difficile.

En somme, les gommages de Rhodophycées paraissent présenter une grande diversité. Les géloses, lévogyres, colorables ou non par l'iode, sont fréquentes dans les Algues marines. On a trouvé, dans les espèces d'eau douce, des corps plus ou moins analogues, mais aussi des mucilages dextrogyres et un mannoside.

11. Les variations saisonnières de la teneur en glucides sont très nettes dans les Lémnécées. Les sucres solubles sont plus abondants en juillet (1 % du poids frais de *Lemanea*) qu'en avril (0,5 %). Les *Sacheria* récoltées en avril, avant la sporulation, sont presque dépourvues de glycogène.

Le *Batrachospermum moniliforme* ne contient que très peu de glycogène de décembre à mars; il devient au contraire fortement colorable par l'iode au mois de mai.

12. Au cours de l'autolyse aseptique prolongée de *Lemanea*, le floridoside et le tréhalose sont complètement hydrolysés, ainsi qu'une

certaine quantité de mucilage ; le glycogène est par contre respecté, au moins pour une grande part.

L'autolysat de *Batrachospermum* est également réducteur ; la viscosité disparaît par suite de l'hydrolyse du gélin.

Ces autolysats ne contiennent pas de polyol, au moins en quantité décelable.

13. Nous avons vérifié que les membranes, sauf dans les *Bangia* et les parties jeunes de *Batrachospermum*, se colorent en bleu dans le chlorure de zinc iodé. La réaction est souvent difficile à observer, en raison de l'imprégnation des membranes par les gommes.

BIBLIOGRAPHIE

- ANSELMINO. (O.) et GILG (E). — Ueber das Vorkommen von Trehalose in *Sclaginella lepidophylla*. — *Ber. d. pharm. Ges.* 23, 1913, p. 326. [41].
- AUSTERWEIL (G). — Sur quelques réactions entre zéolithes et sels peu solubles dans l'eau. — *C. R. Acad. Sc.* 194, 1932, p. 1581 [37].
- BERTHOLD. — Zur Kenntniss der Siphoneen und Bangiaceen. — *Mitteil. Zool. Sta. zu Neapel*, II, Leipzig 1882. [56].
- BERTRAND (G.) et THOMAS (P.). — Guide pour les manipulations de Chimie biologique. — Paris, Dunod, 1919. [33].
- CLAUTRIAU (G.). — Etude chimique de glycogène chez les champignons et les Levures. — *Recueil de l'Inst. Bot. Univ. Bruxelles*, 1895 [49].
- COLIN (H.) et AUGIER (J.). — 1° Les glucides solubles de *Lemanea nodosa*, Kütz. — *C. R. Acad. Sc.*, 195, 1932, p. 1042. — 2° Floridoside, tréhalose et glycogène chez les Algues rouges d'eau douce (*Lemanea*, *Sacheria*). — *C. R. Acad. Sc.* 196, 1933, p. 423.
- COLIN (H.) et GUÉGUEN (E.). — 1° Le sucre des Floridées. — *C. R. Acad. Sc.*, 190, 1930, p. 653. [6]. — 2° La constitution du principe sucré de *Rhodymenia palmata*. — *C. R. Acad. Sc.*, 191, 1930, p. 163. [7]. — 3° Le floridoside chez les Floridées. — *C. R. Acad. Sc.* 197, 1933, p. 1688. [8,51].
- CZURDA (V.). — Morphologie und Physiologie der Algenstärkekörner. — *Beihfte z. bot. Centralblatt*. 45, 1928, p. 97, [49, 63].
- DANGEARD (P). — 1° Recherches sur les *Bangia* et les *Porphyra*. — *Le Botaniste*, 18, 1927. [57,58]. — 2° Traité d'Algologie. — Paris, Lechevalier, 1933.
- ERRERA (L.). — L'épiplasme des Ascomycètes et le glycogène des Végétaux. — Thèse, Bruxelles, 1882. Publié dans le recueil de *l'Inst. Bot. Univ. Bruxelles*, I, 1906, p. 30-32. [44, 23, 45].
- FRÉMY (P.). — Incrustation calcaire du *Batrachospermum moniliforme*, Roth. — *Bull. soc. Linn. Normandie*, 1924, p. 118. [66].
- GEITHER (L.). — *Porphyridium sordidum*, n. sp., eine neue Süßwasser-bangiale. — *Arch. f. Protistenk.* 76, 1932, p. 595. [48].
- GRANDSIRE (A.). — Le chimisme des feuilles privées de chlorophylle. — Thèse, Paris, 1926. [30]
- GUÉGUEN (E.). — Les constituants glucidiques des Algues rouges. — Thèse Paris, 1931, [2, 22, 32, 34, 35, 36, 38, 47, 50].
- HAAS (P) et HILL (T.-G.). — The occurrence of sugar alcohols in marine algae. — *Biochem Journ.*, 25, 1931, p., 1470. — 26, 1932, p., 987 [5, 44, 60].
- HAMMEL (G.). — Les Floridées de France. — *Rev. Algol.* I 1924, p. 278. [27].
- HASSID (W.-Z.). — Occurrence of dulcitol in *Iridaea laminarioides*. — *Plant. Physiol.*, 8, 1933, p., 480 [43].

- KYLIN (H.). — 1° Ueber die roten und blauen Farbstoffe der Algen. — *Zeitschr. f. physiol. chem.*, 76, 1912, p. 396 [55]. — 2° Zur Biochemie der Meeresalgen. — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 83, 1913, p. 171. [24]. — 3° Untersuchungen über die Biochimie der Meeresalgen. *Zeitschr. f. physiol. chem.* 94, 1915, p. 337. [3]. — 4° Studien über die Entwicklungsgeschichte der Florideen. — *Kungl. Svenska Vetenskapakademiens Handlingar*, 63, 1923, [26].
- LIPPMAN (E. O. von). — 1° Ueber Vorkommen von Trehalose, Vanillin und d. Sorbit. — *Ber. d. Chem. Ges.* 45, 3, 1912, p. 3431 [40]. — 2° Kleinere pflanzenchemische Mitteilungen. — *Ber. d. chem. ges.*, 55, 3, 1922, p. 3038, [39].
- MANGENOT (G.). — 1° Recherches sur les constituants morphologiques du cytoplasma des Algues. — *Arch. morph. gén. et expr.* 9, 1922 [45, 59]. — 2° Sur l'amidon des Algues Floridées. — *C. R. Acad. Sc.* 176, 1923, p. 183. [4, 24].
- MOLLIARD (M.). — Nutrition de la plante. — Paris, Dion [29].
- MOBIUS (M.). — Beitrag zur Kenntniss der Gattung *Thorea*. — *Ber. d. bot. ges.*, 9, 1891, p. 333. — Bemerkungen über die systematische Stellung von *Thorea*. — *Ber. d. bot. Ges.* 10, 1892, p. 266 [40, 46, 53].
- NAEGELI (C.). — Die Stärkekörner. — Zurich, 1858. [42].
- RICARD (P.). — Les constituants glucidiques des Algues brunes. — *Ann. Inst. Océan.* — 8, 2, 1930 [4, 28, 46].
- SAUVAGEAU (C.). — 1° Sur la membrane de quelques Algues Floridées et sur la gélotion de l'hydrosol gélosique. — *C. R. Acad. Sc.*, 171, 1920, p. 606. [20, 48]. — 2° Utilisation des Algues marines. — Paris, Doin, 1920. [34].
- SCHMIDLE (W.). — 1° Untersuchungen über *Thorea ramosissima*. Bory. *Hedwigia*, 35, 1896, p. 1.
2° Einiges über die Befruchtung, Keimung und Haarinserction von *Batrachospermum*. — *Bot. Zeit.* 57, 1899, p. 125 [64].
- SCHMITZ (Fr.). — Die systematische Stellung der Gattung *Thorea*. — *Ber. d. bot. Ges.*, 10, 1892, p. 115. [44, 47 52].
- SIRODOT (S.). — 1° Etude anatomique, organogénique et physiologique sur les Algues d'eau douce de la famille des Lémonéacées. — *Ann. sc. nat. Bot.*, 5^e série, 1872 [25]. — 2° Les Batrachospermes. — Paris, Masson, 1884. [9, 62, 65].
- SOLMS-LAUBCH (H. Graf zu). — Ueber die Fruchtentwicklung von *Batrachospermum*. — *Bot. Zeit.*, 25, 1867, p. 161. [13, 61].
- YAMASHITA (T.) et SATO (F.). — Chemical component of the Selaginellaceae grown in Japan. — *Journ. Pharm. Soc. Japan.*, 49, 1929 p. 696 (cité d'après Chemical Abstracts). [42].

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION, HISTORIQUE	5
CHAPITRE PREMIER. — Les Caractères généraux des Lémonécées.	
§ 1. Données morphologiques	12
§ 2. Données chimiques	14
CHAPITRE II. — L'extrait alcoolique des Lémonécées.	
§ 1. Préparation de l'extrait, ses propriétés principales	18
§ 2. Particularités de la défécation	20
§ 3. Hydrolyse des liqueurs	24
CHAPITRE III. — La préparation des principes sucrés à l'état pur et leur identification.	
§ 1. Technique	31
§ 2. Description des produits cristallisés	37
§ 3. Recherche du mannitol	42
CHAPITRE IV. — Les mucilages et le glycogène des Lémonécées.	
§ 1. Technique	43
§ 2-3. Extraits à l'eau pure	45 et 47
§ 4. Extraits alcalins	57
§ 5. Le glycogène	59
§ 6. L'autolyse	65
CHAPITRE V. — Les glucides de <i>Thorea ramosissima</i> .	
§ 1. Les caractères généraux de <i>Thorea</i>	67
§ 2. Les sucres solubles dans l'alcool	69
§ 3. La gomme	71
§ 4. Le glycogène	72
CHAPITRE VI. — Etude sommaire de <i>Bangia atropurpurea</i>	74
CHAPITRE VII. — Etude sommaire de <i>Batrachospermum monili-</i> <i>forme</i>	80
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	88

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

1. *Essais de cultures des tissus réalisés chez les végétaux.*
2. *L'inuline : présence chez les plantes et constitution.*

Vu et approuvé :

Paris, le 17 Mai 1934

Le doyen de la faculté des Sciences,
Ch. MAURAIN

Vu et permis d'imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris
S. CHARLEY

